

赵鑫鑫, 韦云东, 陈蕊蕊, 等. 缓释肥对木薯根际土壤真菌和 C、N、P、S 功能基因动态的影响 [J]. 福建农业学报, 2024, 39 (8): 914-926.
ZHAO X X, WEI Y D, CHEN R R, et al. Fungal Community and C, N, P, and S Functional Genes in Rhizosphere Soil of Cassava Field Treated with a Slow-release Fertilizer [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2024, 39 (8): 914-926.

缓释肥对木薯根际土壤真菌和 C、N、P、S 功能基因动态的影响

赵鑫鑫, 韦云东, 陈蕊蕊, 周时艺, 郑 华, 马崇熙, 徐 钊, 李 军, 卢赛清*

(广西壮族自治区亚热带作物研究所, 广西 南宁 530001)

摘要:【目的】研究木薯缓释肥对根际土壤真菌和 C、N、P、S 功能基因动态的影响。【方法】开展木薯田间试验, 设置 3 个处理: 不施肥 (T1)、双膜缓释肥 C2 基施 (T2) 和植后 34 d 追施 (T3)。在植后 77、104、134 d 采集根际和非根际土样, 测定高通量 (Illumina Miseq PE300) 真菌 (ITS rRNA) 多样性, C、N、P、S 共 72 个 (含总 DNA) 功能基因的 copies (基因芯片技术) 和土壤速效养分 (仅用于相关分析)。【结果】(1) 植后 104 d 根际土壤被孢霉纲、银耳纲、圆盘菌纲相对丰度均为 $T2 < T1$; 植后 134 d, 根际土壤散囊菌纲为 $T2 > T1$ 。T2 散囊菌纲 (134 d)、T3 丛赤壳科 (77 d) 和 T3 粪壳菌纲 (104 d) 在根际相对富集。T1 根际被孢霉纲相对丰度的时间大小顺序为 $134 d < 104 d$; T2 根际散囊菌纲和粪壳菌纲均为 $134 d > 77 d$; T3 根际的球囊菌纲为 $104 d > 77 d$ 。(2) Sobs、ACE、Chao1 指数在 T1 (104 d)、T2 (104 d) 和 T3 (134 d) 根际分别显著或极显著大于非根际。根际土壤 Shannon 指数在植后 77 d 为 $T1 < T2$ 和 T3, T1 和 T2 的时间大小顺序分别为 $104 d > 77 d$ 和 $104 d < 77 d$ 。土壤 Simpson 指数的大小顺序为 T1 根际 (77 d) 大于 T1 非根际 (77 d)、T1 根际 (104 d)、T2 根际 (77 d) 和 T3 根际 (77 d)。(3) LEfSe 分析结果表明, 处理间根际相对富集 1 个纲、1 个目和 2 个科。对比非根际, 植后 77 d 根际相对富集 2 个种, 植后 104 d 相对富集 3 个目、1 个科、1 个属, 植后 134 d 相对富集各 1 个门、目、科和属。时间比较中, 104 d 和 134 d 根际分别相对富集 2 个目和 1 个纲。(4) 134 d, *lig* 等 9 个功能基因在 T1 非根际土壤中的丰度显著高于根际土壤。在 T1 根际土壤中, *chiA* 和 *aclB* 的丰度均为 77 d 高于 104 d 和 134 d。(5) AK 在 104 d 与 31 个功能基因显著相关。银耳纲、肉座菌目、丛赤壳科和球囊菌纲分别和其他 40 个、15 个、14 个、9 个功能基因显著相关。【结论】缓释肥基施和追施可提高木薯根际真菌群落的多样性和丰度, 施肥、时间、根际等均对真菌群落结构和少数功能基因有显著的影响, 相关性分析结果暗示木薯根际真菌可能参与土壤速效养分的循环和功能基因的作用, 为进一步了解木薯根际微生态过程提供科学依据。

关键词: 木薯; 双膜缓释肥; 速效养分; 功能基因; 根际真菌

中图分类号: S154.3; S533

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2024) 08-0914-13

Fungal Community and C, N, P, and S Functional Genes in Rhizosphere Soil of Cassava Field Treated with a Slow-release Fertilizer

ZHAO Xinxin, WEI Yundong, CHEN Ruirui, ZHOU Shiyi, ZHENG Hua, MA Chongxi, XU Chuan, LI Jun, LU Saiqing*

(Guangxi Subtropical Crops Research Institute, Nanning, Guangxi 530001, China)

Abstract: 【Objective】A slow-release fertilizer was applied on a cassava lot to analyze the responses of the fungal community and C, N, P, and S functional genes in the rhizosphere soil. 【Method】A field experiment was conducted with treatments of no fertilization (T1), basal application of double-coating slow-release fertilizer C2 (T2), and C2 applied 34 d after planting (DAP) (T3). Rhizosphere and bulk soil samples were collected at 77, 104, and 134 DAP to determine fungal diversity according to ITS rRNA sequenced by a high-throughput Illumina Miseq PE300, copies of 72 functional genes of C, N, P, and S cycles (including total DNA) by the gene chip technology, and available nutrients by chemical analysis for a correlation analysis. 【Result】(1) Significant differences on the relative abundance (RA) of Mortierellomycetes, Tremellomycetes, and

收稿日期: 2024-04-28 修回日期: 2024-08-06

作者简介: 赵鑫鑫 (1997—), 女, 硕士, 主要从事木薯育种与栽培研究, E-mail: 1026935971@qq.com

* 通信作者: 卢赛清 (1981—), 女, 硕士, 正高级农艺师, 主要从事木薯育种与栽培研究, E-mail: phqbd@163.com

基金项目: 国家木薯产业技术体系建设专项 (CARS-11); 广西农业科学院基本科研业务专项 (桂农科 2021YT150); 广西自然科学基金项目 (2021GXNSFBA196007)

Orbiliomycetes were found in the rhizosphere soils on 104 DAP showing $T2 < T1$, while that of Scatterocysts on 134 DAP indicating $T2 > T1$. Fungal class Scatterycetes under T2 on 134 DAP, Rubiaceae under T3 on 77 DAP, and Coprochetes under T3 on 104 DAP were relatively enriched in the rhizosphere than in the bulk soil. The RAs of the rhizosphere fungi also differed significantly on time of sampling and under different treatments. They were $134 \text{ DAP} < 104 \text{ DAP}$ for Mortieromycetes under T1, $134 \text{ DAP} > 77 \text{ DAP}$ for Scatterocystae and Coprochestae under T2, and $104 \text{ DAP} > 77 \text{ DAP}$ for Sphaeromycetes under T3. (2) The Sobs, ACE, and Chao1 indexes under T1 on 104 DAP, T2 on 104 DAP, and T3 on 134 DAP were significantly higher in the rhizosphere than in the bulk soil ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The Shannon index of rhizosphere soil was lower under T1 than under T2 or T3 on 77 DAP. Under T1, the index was $104 \text{ DAP} > 77 \text{ DAP}$; and under T2, it was the opposite. The Simpson indexes ranked in the order of the rhizosphere soil under T1 on 77 DAP $>$ the bulk soil under T1 on 77 DAP $>$ the rhizosphere soil under T1 on 104 DAP $>$ the rhizosphere soil under T2 on 77 DAP $>$ the rhizosphere soil under T3 on 77 DAP. (3) The LEfSe analysis indicated the fertilizer applications enriched one class, one order, and two families of fungi in the rhizosphere soil, whereas the bulk soil was more abundant in two species on 77 DAP, in 3 orders, one family, and one genus on 104 DAP, and in one phylum, one order, one family, and one genus on 134 DAP. Two orders on 104 DAP and one class on 134 DAP were enriched in the rhizosphere soil. (4) On 134 DAP, the 9 functional genes, such as *lig* in the bulk soil under T1, had significantly more copies than in the rhizosphere soil. In the rhizosphere soil, the RAs of *chiA* and *aclB* under T1 on 77 DAP were higher than those on 104 or 134 DAP. (5) AK significantly correlated with 31 functional genes on 104 DAP. Some fungal classes, such as Tremella, Sarcoidales, Clavulaceae, and Sphaeromycetes, significantly correlated with 40, 15, 14, and 9 other functional genes, respectively. 【Conclusion】 Fertilization by ways of T2 or T3 enriched the diversity and abundance of cassava rhizosphere fungal community. Fertilizer used, application time, and rhizosphere could all significantly affect the fungal community structure and some functional genes in the soil. The correlations might lead to further studies to unveil the intricate ecosystem.

Key words: Cassava; double-coating slow-release fertilizer; available nutrients; functional genes; rhizosphere fungi

0 引言

【研究意义】木薯是一种多功能经济作物，有多种用途，包括作为淀粉、牲畜饲料和相关加工食品的原料，也可通过发酵作为生物能源^[1]。近年来，种植效益低是国内木薯种植面积不断减少的重要原因之一，因此低成本的木薯高效栽培管理技术是促进木薯产业持续发展的重要举措^[2]。施用缓释肥可以增加肥料利用率，从而提高经济效益^[3]。【前人研究进展】土壤C、N、P、S循环是生态系统中的重要元素循环，土壤微生物通过调节多种功能基因（包括与C、N、P、S代谢相关的基因）来维持生态系统的各种功能。目前，施肥处理对功能基因的影响主要集中于森林土壤、湿地和水体等不同生态环境的微生物功能研究中，如Ren等^[4]研究发现施用沼液可提高杨树人工林土壤微生物的功能基因信号强度和多样性；Li等^[5]研究表明施绿肥可改善土壤性质，改变参与氮循环的功能基因丰度。木薯施用缓释肥的相关研究较少，韦云东等^[2]研究发现施用缓释肥比常规施肥更能促进木薯植株生长，提高鲜薯产量、淀粉产量和肥料利用率。周时艺等^[6,7]研究表明，采用木薯机械化种植，木薯鲜薯产量和淀粉产量在一定的施肥范围内均随缓释肥Osmocote 1号施肥量的增加而增加，从而提高木薯种植效益。木薯根际微生物的研究主要集中在细菌，如覃锋燕

等^[8]研究发现木薯粉垄耕作造成根际土壤细菌群落多样性和丰富度均高于非根际土壤；蔡杰等^[9]研究发现施肥方式改变木薯根际土壤细菌的多样性和相对丰度；韦云东等^[10]研究发现木薯根际细菌优势菌门包括变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、绿弯菌门等。关于木薯根际土壤真菌的相关报道较少，Li等^[11]研究发现不同施氮量对半知菌纲和子囊菌门未分类纲的相对丰度有影响。Cai等^[12]研究表明施肥可以改变木薯根际土壤中真菌的丰富度和多样性，增加潜在的有益真菌数量，减少潜在的有害真菌数量。韦云东等^[13]研究发现施肥降低了真菌物种丰度，壶菌门和4个真菌纲、哈茨木霉受施肥或根际影响。【本研究切入点】目前关于木薯根际真菌的研究较少，木薯根际真菌与根际速效养分以及功能基因的关系尚未见报道。【拟解决的关键问题】以C、N、P、S功能基因为切入点，通过高通量测序技术和基因芯片技术探讨不同施肥方式对木薯根际土壤真菌群落和功能基因的影响，进一步了解木薯缓释肥对根际微生态的影响，以为木薯高效施肥等提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试木薯品种为桂热13号。

所用双膜小颗粒缓释肥（简称C2，N、P₂O₅、

K₂O 含量分别为 16.2%、5.4%、16.2%)，由中国热带农业科学院环境与植物保护研究所提供。C2 使用的硝酸铵钙、氯化铵、磷酸二氢铵、硝酸钾 4 种肥料原料与膨润土、硅藻土等造粒后成为小颗粒，之后以聚乳酸为原料形成一层淋膜，再使用凹凸棒粉、聚氨酯等包膜材料进行包膜，形成直径约 5 mm 的颗粒肥。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

田间试验地位于广西壮族自治区桂平市石龙镇福平村黄寿屯 (N23°19'56", E109°54'18")。试验地土壤为红壤，质地为黏土，耕层土壤 (0~20 cm, 2021 年 3 月 24 日种植前采样) pH 为 5.12，有机质为 40.95 g·kg⁻¹，全氮、全磷、全钾分别为 2.289、1.461、7.952 g·kg⁻¹，速效氮 (AN)、速效磷 (AP)、速效钾 (AK)、缓效钾分别为 149.33、143.68、284.74、192.00 mg·kg⁻¹。

本研究设置 3 个处理：不施肥 (T1)、基施双膜缓释肥 C2 (T2) 和植后 34 d 追施双膜缓释肥 C2 (T3)，C2 肥的 N:P₂O₅:K₂O 比例为 16.2:5.4:16.2，T2 和 T3 的施肥量为 N: P₂O₅: K₂O=112.5: 37.5: 112.5 kg·hm⁻²。设置 4 个重复，小区采用随机区组排列。每个小区 8 行×6 株木薯，株行距 1 m×0.9 m，小区面积 43.2 m²，不起垄种植。于 2021 年 3 月 24~25 日种植并对 T2 施肥，4 月 27 日 (植后 34 d) 对 T3 进行施肥。其他管理采用常规管理措施。

1.2.2 采样与测试方法

于 2021 年 6 月 8~9 日 (植后 77 d)、7 月 5~6 日 (植后 104 d)、8 月 4~5 日 (植后 134 d) 采集根际和非根际土壤，其中根际土壤用“抖落法”采集，非根际土样用常规方法采集。其中植后 77 d 的根际土样由于采样量少，仅保存一份冷冻样：在液氮 (-196 ℃) 中速冻后在干冰中贮存 (-80 ℃)，之后带回室内冰柜冷冻保存 (-40 ℃)。其他时间的土样采集后在 15 min 内用四分法分为常温样和冷冻样 (如上描述) 保存。

常温样风干过筛后采用常规方法测定土壤速效氮、磷、钾^[14]。冷冻土样液氮下使用玛瑙研钵磨后，使用干冰 (-80 ℃) 运输送检，进行真菌内转录间隔区 (Internal Transcribed Spacer, ITS) 高通量测序和功能基因测定。

真菌 (ITS) 高通量测序参照 Yang 等^[15]的方法，包括 DNA 提取和 PCR 扩增、测序、数据处理等过程，其中 PCR 扩增用的引物对为 ITS1F (5'-CTTGGT CATTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2 (5'-GCTGCGT

TCTTCATCGATGC-3')，对 ITS 基因 V3~V4 可变区进行扩增，测序使用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行 (上海美吉生物医药科技有限公司)。使用 Unite (Release 8.0 <http://unite.ut.ee/index.php>) 的真菌数据库对 OTU 进行注释，设置 97% 的相似性阈值，注释后得到不同真菌分类层次的 OTU 数量和相对丰度。

C、N、P、S 功能基因采用基因芯片技术，由广东美格基因科技有限公司进行，具体流程如下：①土壤样品 DNA 的提取与 QMEC 检测与张洁洁等^[16]相同，包括按照说明书流程利用 PowerSoil DNA Isolation Kit (MOBIO Laboratories, Carlsbad, CA USA) 从土壤样品中提取 DNA。使用 Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) 和 NanoDrop 2000 (ThermoScientific, Wilmington, DE, USA) 检测 DNA 的浓度与纯度。②采用基于高通量荧光定量 PCR (qPCR) 的功能基因芯片 (QMEC) 解析微生物-的功能特征，以 16S rRNA 基因为内参基因，检测和量化与碳氮硫磷元素循环相关的 71 个功能基因^[17]。采用 SmartChip RealTime PCR 系统 (WaferGen Biosystems, USA) 进行 qPCR 反应与荧光信号检测。每个样品均设置 3 个技术重复与阴性对照。③当阴性对照无扩增、扩增效率在 1.8~2.2 范围内且 Ct 值小于 31 时，判定该基因检测信号为阳性可用于后续的数据分析，并通过 Ct 值与 16S rRNA 基因的拷贝数计算待测液的初始基因拷贝数，从而计算获得各基因在每克干土中的拷贝数^[18,19]。

土壤速效养分结果 (另文发表) 在本研究中仅用于基因功能的相关分析。

1.3 数据统计分析

α -多样性指标计算采用 Mothur 1.30.2 进行。数据使用 Rstudio 1.1.463 进行分析，基于 R-4.2.1。重复方差分析以小区为重复对象，用 R 语言中的 aov 函数进行分析，分析指标包括真菌纲水平相对丰度、部分优势目和科水平相对丰度、属水平 α -多样性，得到不同的因素 (包括处理间、根际与非根际、采样时间及其交互作用) 对各指标的影响是否显著，文中仅描述 P 值。

处理间的纲水平和部分优势目和科水平相对丰度差异比较采用非参数 Kruskal-Wallis 检验，用 R 语言中的 boxplerk.R 程序计算并自动标记小写字母。真菌属水平 α -多样性指标和功能基因和总 DNA 的处理间差异的方差分析多重比较采用 SSR 法，在 R 语言中的 boxplert.R 程序中计算并自动标记小写字母。各种指标的根际与非根际之间的比较和不同采样时间

之间的比较均采用配对 *t* 检验，用 R 语言自带函数 *t.test* 进行，并使用 *apply* 函数进行批量检验。

真菌纲和部分优势目和科水平 Heatmap 图采用 Pheatmap 包进行作图，其中功能基因的 Heatmap 图先进行对数转化，再进行作图。

LEfSe (LDA EffectSize) 首先使用 non-parametric factorial Kruskal-Wallis (KW) sum-ranktest (非参数因子克鲁斯卡尔-沃利斯和秩检验) 检测具有显著丰度差异特征，并找到与丰度有显著性差异的类群。然后 LEfSe 采用线性判别分析 (LDA) 来估算每个组分 (物种) 丰度对差异效果影响的大小。选择 LDA 值大于 4 的物种，即组间具有统计学差异的 Biomarker，在美吉生信云平台 (<http://majorbio.com>) 进行计算。本文仅对根际土壤进行 LEfSe 分析。

相关分析采用 Pearson 相关，在 R 语言中使用 corplot、Hmisc、tidyverse、ggsignif 等软件包进行计算和作图。

2 结果与分析

2.1 真菌群落结构和多样性

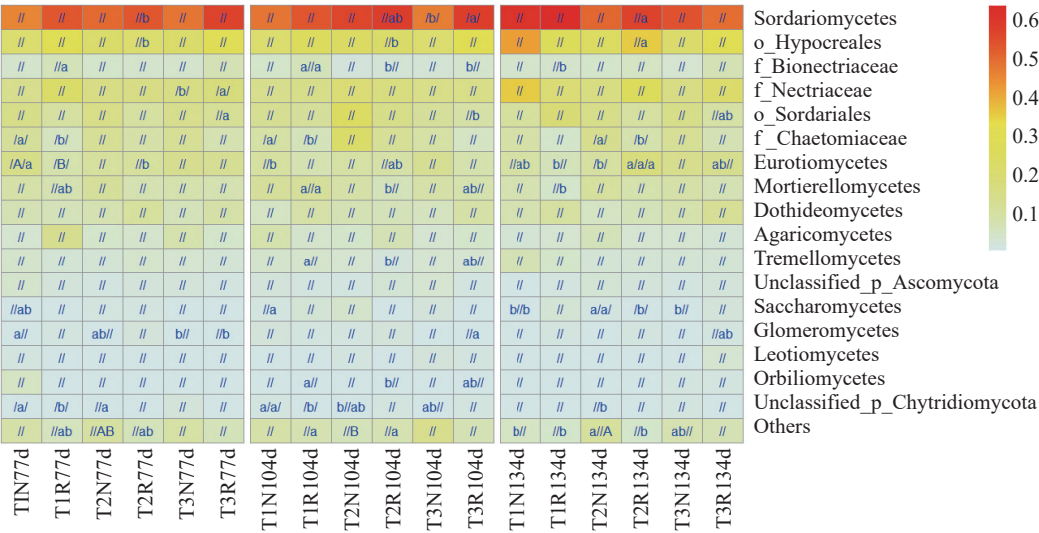
2.1.1 真菌群落结构描述

对 72 个样品进行高通量测序，共获得优化序列

3793920 个，926554710 bases，平均序列长度 244 bp。样品中共检测出 14 个真菌门，其中子囊菌门 (Ascomycota) 占有优势地位，相对丰度 75.41%±7.25% (图表略，可从图 1 计算)；被孢霉门 (Mortierellomycota, 8.22%±3.19%)、担子菌门 (Basidiomycota, 8.19%±5.42%)、球囊菌门 (Glomeromycota, 1.32%±1.13%)、壶菌门 (Chytridiomycota, 1.08%±0.86%)、Calcarisporiellomycota (0.30%±0.36%)、梳霉门 (Kickxellomycota, 0.21%±0.20%)，未注释到门水平的有 5.13%±3.09%。

由图 1 可知，纲水平的优势菌为粪壳菌纲 (Sordariomycetes, 52.97%±9.58%，属于子囊菌门)、散囊菌纲 (Eurotiomycetes, 10.67%±4.34%，属于子囊菌门)、被孢霉纲 (Mortierellomycetes, 8.19%±3.20%，属被孢霉门)、座囊菌纲 (Dothideomycetes, 7.42%±3.91%，属于子囊菌门)、伞菌纲 (Agaricomycetes, 4.72%±5.12%，属担子菌门)、银耳纲 (Tremellomycetes, 3.06%±2.12%，属担子菌门)、子囊菌门未分类纲 (unclassified_p_Ascomycota, 1.58%±1.63%)；酵母纲 (Saccharomycetes, 1.06%±1.56%，属于子囊菌门)。

其中粪壳菌纲下面有两个优势目：肉座菌目



(1) 第一个/之前的字母表示处理间的差异，两个/之间的字母表示根际与非根际之间的差异，第二个/后的字母表示采样时间之间的差异；(2) 处理间/根际与非根际/时间比较，其中一个因素的比较均排除另外两个因素的差异进行。如处理间比较仅限同一采样时间和同一土壤类型（根际或非根际）的不同处理比较。不同的小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)，不同的大写字母表示极显著 ($P<0.01$)。

(2) 处理编号中，R 表示根际土壤，N 表示非根际土壤。

(1) Letters before first “/” indicate significant difference between treatments; those between two “/” indicate difference between rhizosphere and bulk soil; and those after second “/” indicate difference between sampling times. (2) Mutually exclusive comparisons between intertreatment/rhizosphere and bulk soil/time, e.g., a comparison between treatments is limited to treatments on either rhizosphere or bulk soil at same sampling time. Data with different lowercase letters indicate significant differences at $P<0.05$; those with different uppercase letters, extremely significant differences at $P<0.01$. (2) In the treatmet name, R: rhizosphere soil; N: bulk soil.

图 1 真菌纲和部分主要目和科的 heatmap 图

Fig. 1 Heatmap of fungal classes and dominant orders and families

(Hypocreales, 25.97%±11.61%) 和 粪壳菌目 (Sordariales, 12.88%±7.93%), 前者下属有 2 个主要科: 丛赤壳科 (Nectriaceae, 18.08%±10.51%) 和生赤壳科 (Bionectriaceae, 4.11%±2.50%), 后者下属有 1 个主要科: 毛壳科 (Chaetomiaceae, 9.53%±7.22%)。

2.1.2 真菌群落的差异分析

由图 1 可知, 不同处理间的真菌群落相对丰度存在显著差异。植后 77 d, 非根际土壤球囊菌纲为 T3<T1。植后 104 d, 非根际土壤壶菌门下属的未分类纲, 根际土壤被孢霉纲、银耳纲、圆盘菌纲 (Orbiliomycetes) 均为 T2<T1; 根际土壤生赤壳科为 T2 和 T3<T1。植后 134 d, 非根际土壤酵母纲为 T1、T3<T2, 根际土壤散囊菌纲为 T2>T1。处理间的根际土壤的差异主要表现在施肥与不施肥之间, 追施 C2 比不施肥降低了 77 d 根际土壤球囊菌纲, 基施 C2 则降低了 104 d 根际土壤被孢霉纲、银耳纲、圆盘菌纲, 提高了 134 d 根际土壤散囊菌纲。

不同处理的根际与非根际的差异真菌有所区别。T1 散囊菌纲在 77 d 的非根际相对根际富集; 毛壳科和壶菌门下属的未分类纲均在 77 d 和 104 d 的根际显著低于非根际。T2 的根际散囊菌纲相对丰度在 134 d 显著高于非根际, 毛壳科和酵母纲则显著低于非根际。T3 则有丛赤壳科在 77 d 和粪壳菌纲在 104 d 根际显著相对富集。

采样时间之间也有少数真菌存在显著差异。T1 非根际的酵母纲和散囊菌纲表现出了采样时间之间的差异, 分别为 134 d<104 d 和 104 d<77 d。T1 根际被孢霉纲和生赤壳科的不同时间的相对丰度分别为 134 d<104 d、134 d<104 d/77 d。T2 非根际壶菌门下属的未分类纲的时间大小顺序为 134 d<77 d; T2 根际散囊菌纲和粪壳菌纲均为 134 d>77 d, 粪壳菌纲下属的肉座菌目为 134 d>77 d/104 d。T3 根际球囊菌纲和粪壳菌纲下属的粪壳菌目的时间大小顺序分别为 104 d>77 d、104 d<77 d。

2.1.3 真菌属水平 α -多样性

由表 1 可知, Sobs、ACE、Chao1 指数均在植后 104 d 的 T1 和 T2 的根际分别显著或极显著大于非根际, 在植后 134 d T3 根际则显著高于非根际。

Shannon 指数在植后 77 d 处理间有显著差异, T2 和 T3 根际显著高于 T1; 该指数在根际与非根际之间无显著差异, 但在根际有采样时间之间的差异, T1 根际 104 d 显著高于 77 d, T2 则相反。Simpson 指数在植后 77 d 的根际有处理间差异, 具体为 T1>T2/T3; 植后 77 d T1 根际也显著高于非根际, 且 T1 根际 77 d 也极显著高于 104 d。说明植后 77 d, 不

施肥处理的根际 Simpson 指数最大, 其真菌多样性最低, 不仅低于 77 d 的非根际, 也低于 77 d 的另外两个施肥处理的根际, 在时间上还低于 104 d 的根际。

2.1.4 真菌 LEfSe 分析结果

由表 2 可知, 3 个处理的根际对比中, 植后 77 d, T3 的 Sordariales_fam_Incertae_sedis-Ramophialophora-Ramophialophora_sp. 的相对丰度最高; 植后 104 d, T1 根际相对 T2 和 T3 根际的生赤壳科 (Bionectriaceae)-枝穗孢属 (Clonostachys)-Clonostachys_sp. 和 Chaetosphaeriales-Chaetosphaeriaceae-Codinaea-s_unclassified_g_Codinaea 的相对丰度较高。植后 134 d, T2 根际的散囊菌纲 (Eurotiomycetes)-小囊菌目 (Microascales)-小囊菌科 (Microascaceae) 的相对丰度最高。

植后 77 d, T1 根际的 Clonostachys_sp. 种的相对丰度最高, T2 根际 s_Chaetomium_sp. 种的相对丰度最高。植后 104 d, T1 根际的 Branch06 目-f_unclassified_o_Branch06-g_unclassified_o_branch06-s_Branch06_sp.、煤炱目 (Capnodiales) 和 Chaetosphaeriales 目-Chaetosphaeriaceae 科-Codinaea 属-s_unclassified_g_Codinaea 的相对丰度最高。植后 104 d, T2 根际的头束霉属 (Cephalotrichum)-s_unclassified_g_Cephalot 的相对丰度最高; T3 根际的 Stachybotryaceae 科相对丰度最高。

植后 134 d, T2 根际的子囊菌门 (Ascomycota)-散囊菌纲 (Eurotiomycetes) 和小囊菌目 (Microascales)-小囊菌科 (Microascaceae)-头束霉属 (Cephalotrichum)-s_unclassified_g_cephalotrichum 的相对丰度最高。T3 根际的镰刀菌属 (Fusarium)-s_unclassified_g_Fusarium 和 Bionectriaceae 科-Clonostachys 属-Clonostachys_sp. 种的相对丰度最高。

不同采样时间之间的 LEfSe 分析也有显著差异的真菌类别, T1 根际在 104 d 的 o_Branch06-f_unclassified_o_Branch06-g_unclassified_o_branch06-s_Branch06_sp. 以及煤炱目 (Capnodiales)-球腔菌科 (Mycosphaerellaceae) 的相对丰度最高。T2 根际在 134 d 的散囊菌纲 (Eurotiomycetes) 的相对丰度最高。

2.2 C、N、P、S 功能基因

2.2.1 共有和特有的功能基因

有 52 个基因 (含 16S) 在每个处理中均出现, 有 5 个基因未检测到, 包括 nirS2、hzo、hzaA、mcrA、exo-chi。其中 nirS2 基因是反硝化的最主要基因, hzo 和 hzaA 均为厌氧氨氧化的基因, mcrA 为产甲烷菌甲基辅酶 M 还原酶 α 亚基基因片段, 所测样品这些基因的缺失, 均说明土壤通气状况良好, 未达到反硝化作用、产甲烷均所需的厌氧条件。exo-chi 是

表 1 真菌属水平 α-多样性
Table 1 α-diversity of fungi at family level

土壤类型和时间 Soil types and time	处理 Treatment	Sobs	Shannon	Simpson	ACE	Chao1
R77d	T1	211.8±65.4a/a/a	3.241±0.083b/a/b	0.083±0.007a/a/A	222.6±72.9a/a/a	223.5±73.3a/a/a
	T2	227.5±28.8a/a/a	3.562±0.205a/a/a	0.059±0.016b/a/a	232.4±31.4a/a/a	234.6±33.7a/a/a
	T3	239.3±29.8a/a/a	3.584±0.115a/a/a	0.057±0.009b/a/a	245.1±32.5a/a/a	249.0±34.3a/a/a
N77d	T1	197.5±28.5a/a/a	3.528±0.188a/a/a	0.057±0.012a/b/a	203.5±33.9a/a/a	207.7±39.8a/a/a
	T2	188.5±26.8a/a/a	3.559±0.131a/a/a	0.055±0.009a/a/a	191.8±27.9a/a/a	193.4±29.7a/a/a
	T3	206.3±18.1a/a/a	3.491±0.079a/a/a	0.066±0.016a/a/a	209.8±20.4a/a/a	211.3±19.5a/a/a
R104d	T1	249.8±29.1a/a/a	3.604±0.213a/a/a	0.051±0.008a/a/B	257.9±32.3a/a/a	259.4±32.7a/a/a
	T2	232.5±21.4a/A/a	3.412±0.217a/a/b	0.068±0.018a/a/a	241.1±23.3a/A/a	242.8±23.1a/A/a
	T3	254.5±39.7a/a/a	3.439±0.264a/a/a	0.084±0.058a/a/a	265.0±43.4a/a/a	265.7±44.1a/a/a
N104d	T1	204.5±27.1a/b/a	3.516±0.102a/a/a	0.060±0.005a/a/a	207.5±28.3a/b/a	208.1±28.4a/b/a
	T2	189.5±33.7a/B/a	3.141±0.619a/a/a	0.121±0.117a/a/a	195.3±35.9a/B/a	195.1±36.5a/B/a
	T3	192.8±28.2a/a/a	3.343±0.265a/a/a	0.073±0.020a/a/a	195.6±29.1a/a/a	196.6±29.9a/a/a
R134d	T1	223.8±25.6a/a/a	3.258±0.464a/a/ab	0.110±0.067a/a/AB	236.6±32.7a/a/a	237.1±32.6a/a/a
	T2	219.0±34.9a/a/a	3.392±0.353a/a/ab	0.069±0.027a/a/a	231.2±41.4a/a/a	237.5±46.8a/a/a
	T3	249.5±19.8a/a/a	3.491±0.167a/a/a	0.062±0.016a/a/a	264.7±25.8a/a/a	272.0±28.1a/a/a
N134d	T1	204.8±28.1a/a/a	2.811±0.883a/a/a	0.193±0.227a/a/a	218.6±24.4a/a/a	220.0±21.4a/a/a
	T2	180.8±32.3a/a/a	3.391±0.178a/a/a	0.065±0.014a/a/a	184.0±33.8a/a/a	184.9±34.1a/a/a
	T3	202.8±26.4a/b/a	3.441±0.303a/a/a	0.065±0.031a/a/a	206.8±28.4a/b/a	208.5±29.2a/b/a

①R表示根际土壤，N表示非根际土壤。R77d和N77d分别表示植后77 d的根际土壤和植后77 d的非根际土壤。②“/”及其前后的字母含义与图1相同。
①R: rhizosphere soil; N: bulk soil. R77d and N77d: rhizosphere soil and bulk soil on 77 DAP, respectively. ② Letters mean as Fig. 1.

产生外源性木聚糖酶的基因，*exo-chi* 功能基因常用于对植物细胞壁进行降解，分解植物细胞壁中的木质素、纤维素、半纤维素等复杂化合物。该基因的缺失，很可能是由于采样季节木薯田间未产生落叶，土壤中的微生物活动暂时不需要激活该功能基因。

有 15 个基因仅在部分处理中出现（图 2）。说明所测的基因大部分都存在于不同时间和不同处理中，而少数处于较活跃的存在和消失状态。其中 *cphy*（半胱氨酸植酸酶）和 *pox*（木质素降解酶）分别仅在 77 d 的 T1 非根际和根际的 1 个样品中表现出了非 0 值，*phoD* 仅在 77 d 的 T1 和 T2 根际的 1 个样品中出现。

naglu 在 104 d 的 T1 和 T2 处理的 2 个和 1 个的非根际样品中出现。*ppk* 则分别在 T1R77d、T1N104d、T2N104d 中的 1、2、1 个样品中出现。*ppk* 为多聚磷酸盐激酶，其与生物体内 poly-P 代谢相关的关键酶，它催化 ATP 末端的磷酸基团可逆地转移到长链多聚磷酸盐（poly-P）上。*cdaR* 则仅在

T1N77d、T1R77d、T2R77d、T1N104d、T2N104d、T3N104d 的分别 1~2 个样品中出现。*hao*（羟胺氧化酶）可催化 NH_2^+OH 转变为 NO_2^- ，这是硝化作用的一个环节，其在 T1N77d、T1R77d、T1N104d、T2N104d、T3N104d 的分别 1、1、2、2、2 个样品中出现。*amyX*（编码糖化酶）和 *cdaR*（碳固定基因）分别在 T1N77d、T1R77d、T2R77d、T1N104d、T2N104d、T3N104d 的 1~2 个样品中出现。*rbcL* 和 *nasA* 的非零值出现的处理和时间完全一致，分别在 T1N77d、T2N77d、T1R77d、T2R77d、T1N104d、T2N104d、T3N104d 的 3、1、3、1、2、3、2 个样品中出现。以上基因均未在 134 d 中出现，表明植后 134 d 的土壤或根际环境与前两个采样时间有一定差异。

cdh 则在 77 d 的根际和非根际，104 d 的非根际中均有出现，在 104 d 和 134 d 的根际土壤中均未出现。

amyA2（编码 α-淀粉酶）在 T2N77d、T1R104d、T1N134d、T2N134d、T1R134d 中均未出现，在所测的其他处理中分别在 1~3 个样品中出现。*iso-plu* 仅

表 2 土壤真菌 LEfSe 分析信息
Table 2 LEfSe analysis information of soil fungi

处理对及优势处理 The treatments for comparison and the advantageous one	生物标记物 Biomarker	处理对及优势处理 The treatments for comparison and the advantageous one	生物标记物 Biomarker
77 d T1R-T2R-T3R	f_Sordariales_fam_Incertae_sedis, g_Ramophialophora_s_Ramophialophora_sp. f_Bionectriaceae_g_Clonostachys,	104 d T2-T2R	g_Cephalotrichum_s_unclassified_g_Cephalotrichum
104 d T1R-T2R-T3R	s_Clonostachys_sp.; o_Chaetosphaeriales, f_Chaetosphaeriaceae_g_Codinaea, s_unclassified_g_Codinaea	134 d T2-T2R	Ascomycota_c_Eurotiomycetes; o_Microascales, f_Microascaceae_g_Cephalotrichum, s_unclassified_g_cepahlotrichum
134 d T1R-T2R-T3R	c_Eurotiomycetes_o_Microascales, f_Microascaceae	134 d T3-T3R	g_Fusarium_s_unclassified_g_Fusarium; f_Bionectriaceae_g_Clonostachys_s_Clonostachys_sp.
77 d T1-T1R	s_Clonostachys_sp.	104 d T3-T3R	f_Stachybotryaceae
77 d T2R-T2	s_Chaetomium_sp.	T1R 77d-104d-134d	o_Branch06_f_unclassified_o_Branch06, g_unclassified_o_branch06_s_Branch06_sp.; o_Capnodiales_f_Mycosphaerellaceae
104 d T1-T1R	o_Branch06_f_unclassified_o_Branch06, g_unclassified_o_branch06_s_Branch06_sp.; o_Capnodiales; o_Chaetosphaeriales, f_Chaetosphaeriaceae_g_Codinaea, s_unclassified_g_Codinaea	T2R 77d-104d-134d	c_Eurotiomycetes

①T1R-T2R-T3R单元格内的上下两行分别表示共同和异同的处理,如77d T1R-T2R-T3R表示77d的T1、T2、T3根际比较,且粗体加下划线格式表示右侧列出的真菌门类为该处理的Biomarker。R表示根际土。②真菌门类名称前的c_表示纲(class),o_表示目(order),f_表示科(family),g_表示属(genus),s_表示种(species),不标记表示门水平;“;”表示后者包含于前者的门类,“,”表示后者与前者不属于同一门类。

(1) Upper and lower rows in cells of same type represent common and different treatments, respectively. For example, 77d T1R-T2R-T3R is comparison of rhizosphere soils under T1, T2, and T3 on 77 DAP. Name with underlined bold fonts indicates fungal phyla listed on the right to be biomarker of treatment, and R, rhizosphere soil. (2) Before a fungus name, c_ represents at class level, o_, order, f_, family, g_, genus, s_, species, and unmarked, phylum. "; " indicates two in same phylum; and ", " two are in different phyla.

在 T2R77d、T1R104d、T1N134d、T1R134d 中未出现,在其他处理中分别有 1~2 个样品中出现。*acsB* 仅在 T1R104d、T2R104d、T3R104d、T1R134d 中未出现,在其他处理中分别有 1~3 个样品中出现。*dsrB* 仅在 T2N77d、T3R104d、T2N134d、T2R134d 中未出现,在其他处理中分别有 1~3 个样品中出现。

不同时间和处理下,根际和非根际共有的基因数量在 53~62 个(图表略),其中 77 d T1 的根际和非根际共有 62 个,为最高值,说明施肥或根际减少了根际与非根际的共有基因数量。

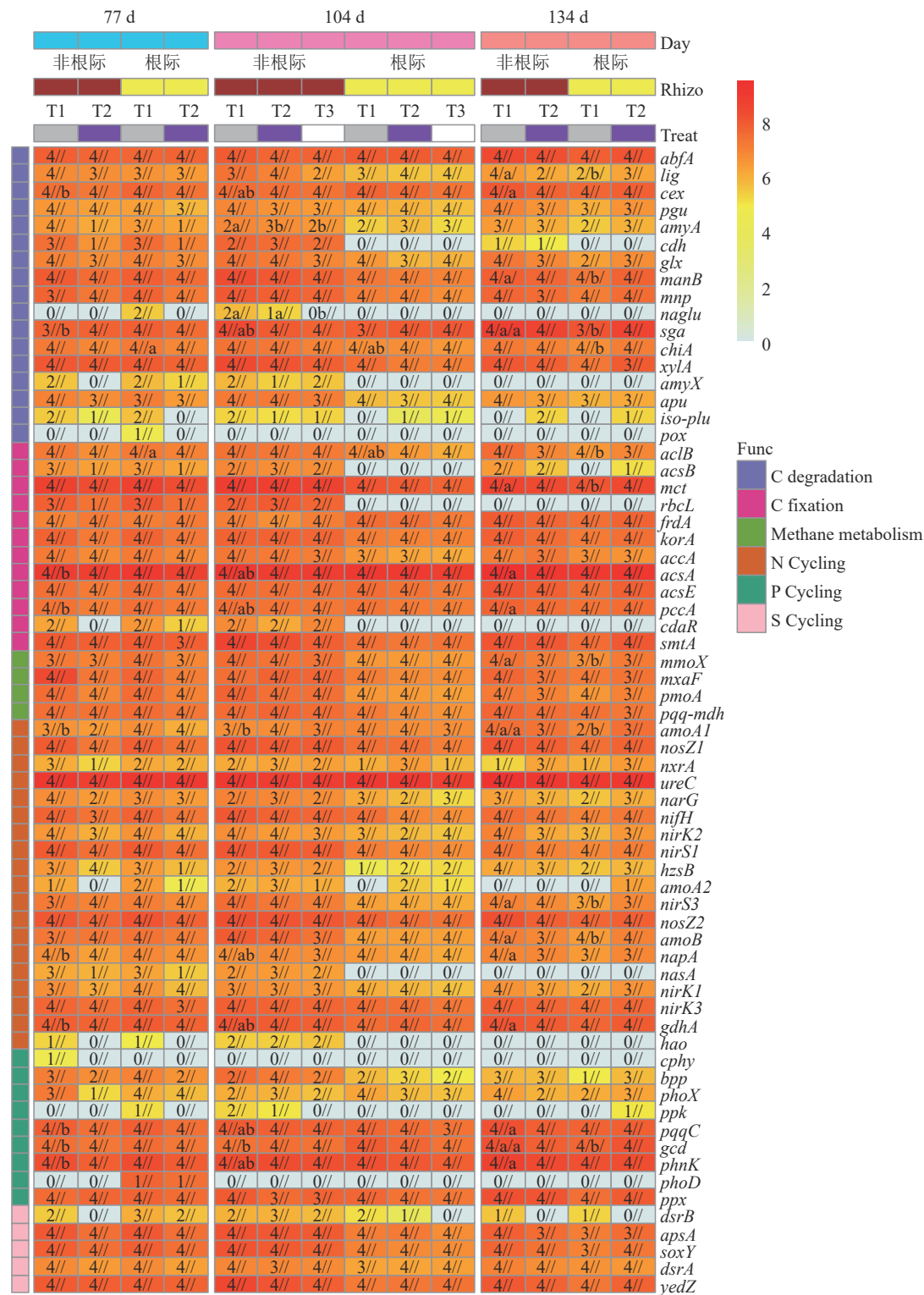
2.2.2 功能基因的方差分析结果

由图 2 可知,在非 0 值的基因中,134 d 出现根际与非根际的显著差异,*lig*、*manB*、*sga*、*mct*、*mmoX*、*amoA1*、*nirS3*、*amoB* 和 *gcd* 在 T1 非根际土壤中的丰度显著高于根际土壤。104 d 表现出处理间的显著差异,*amyA* 非根际土壤中 T1 的丰度显著高于 T2 和 T3。T1 处理共有 12 个非 0 值的基因展现出了时间的差异,在非根际土壤中,*cex*、*sga*、*acsA*、*pccA*、*amoA1*、*napA*、*gdhA*、*pqqC*、*gcd* 和 *phnK* 的丰度均表现为 134 d 高于 77 d 和 104 d;在根际土壤中,*chiA* 和 *aclB* 的丰

度均为 77 d 高于 104 d 和 134 d。表现出时间差异的 12 个非 0 值基因按照功能分类,有 3 个基因有碳降解功能:*cex*、*sga* 和 *chiA*, 3 个为碳固定基因:*acsA*、*pccA*、*aclB*, 3 个氮循环基因:*amoA1*、*napA*、*gdhA*, 3 个磷循环基因:*pqqC*、*phnK* 和 *gcd*。这些基因的时间变化可能与土壤温度和水分(通气状况)有关。总 DNA 也在 T1 非根际表现出了时间上的差异,其在 134 d 最高,显著高于 77 d 和 104 d。说明施肥掩盖了功能基因之间的时间差异。

2.2.3 功能基因与速效养分和真菌相对丰度的相关性

由图 3 可知,按时间分析,速效钾(AK)在 104 d 与 31 个功能基因显著相关,在 77 d 仅与 1 个功能基因 *cdh* 相关,在 134 d 与功能基因无显著相关。植后 104 d,AK 与 31 个功能基因显著相关,包括 7 个碳降解基因 *lig*、*amyA*、*apu*、*glx*、*manB*、*mnp*、*chiA*, 5 个碳固定基因 *aclB*、*korA*、*mct*、*frdA*、*accA*, 4 个甲烷代谢基因 *mmoX*、*mxAF*、*pmoA*、*pqq-mdh*, 11 个氮循环基因 *narG*、*nifH*、*nirK2*、*nirS1*、*hzsB*、*nirS3*、*nosZ2*、*amoB*、*napA*、*nirK1*、*gdhA*, 1 个磷循环基因 *bpp*, 3 个硫循环基因 *apsA*、*dsrA*、*soxY*。



第一个/之前的数字是表示非零值的样品个数，第一个/之前的字母表示处理间是否有显著差异，两个/之间的字母表示根际与非根际之间的差异，第二个/后的字母表示采样时间之间的差异。不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Number before first "/" indicates count of non-zero values, while letter, significant difference between treatments; letter between two "/" indicates difference between rhizosphere and bulk soil; and letter after second "/" indicates difference between sampling times. Data with different lowercase letters indicate significant differences at $P<0.05$.

图2 功能基因丰度 (对数转化)
Fig. 2 Logarithmic transformed abundance of functional genes

筛选出非 0 值大于 5 个的 64 基因进行相关分析 (均剔除 0 值)，*ppk* 和 *amoA2* 的非 0 值分别为 5 个和 14 个，二者仅与 *mxoF* 显著相关；*nrxA* 与 11 个功能基因显著相关：*cdh*、*frdA*、*korA*、*acsE*、*pmoA*、

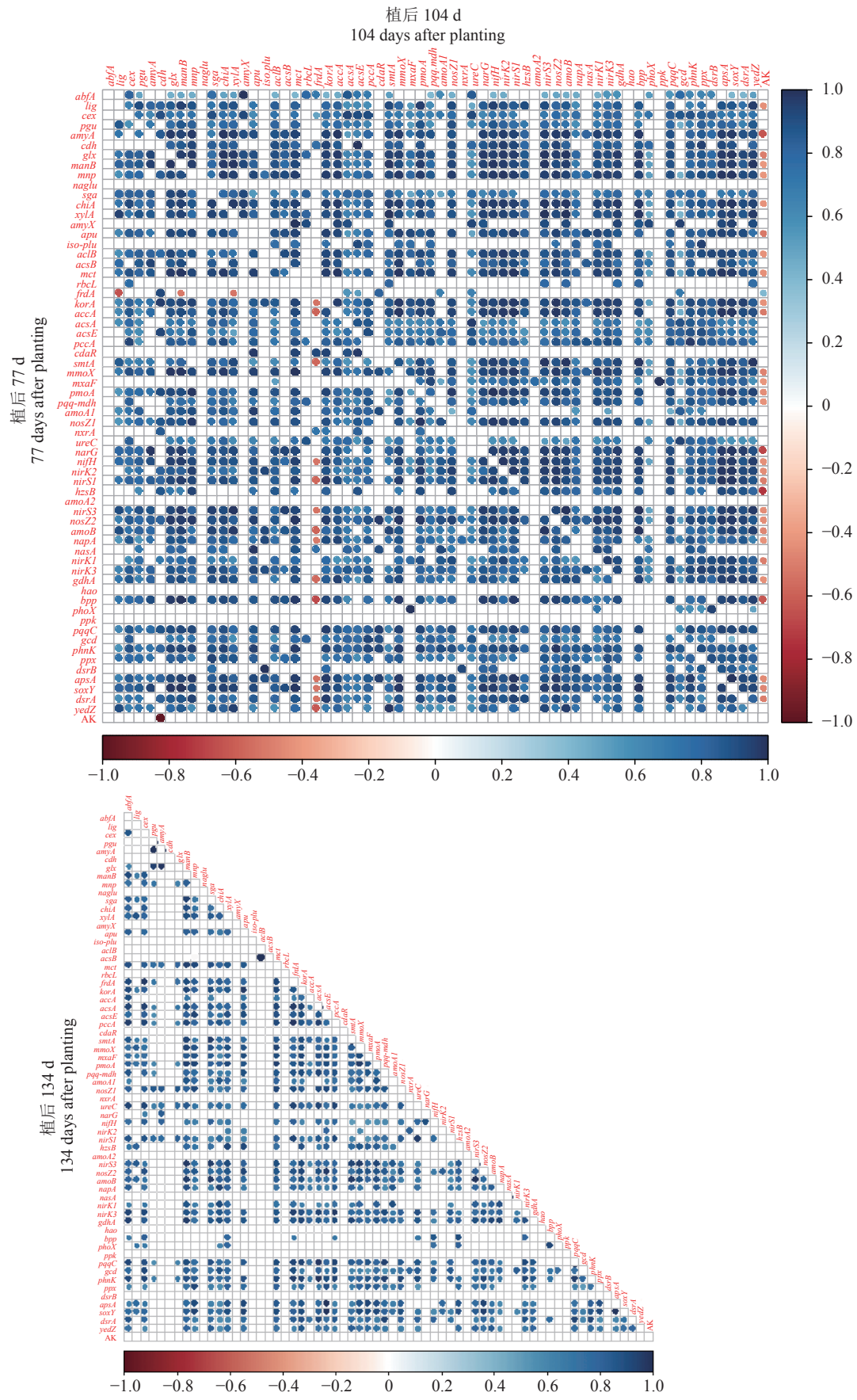


图 3 功能基因之间及其与速效养分的相关性 (仅列出有显著相关)

Fig. 3 Correlation between functional genes and available nutrients (only significant correlations are listed)

nosZ2、*napA*、*phnK*、*dsrB*、*nirK2* 和 *gcd*；*rbcL* 与 16 个基因显著相关：*abfA*、*glx*、*sga*、*xylA*、*amyX*、*smtA*、*nirS3*、*amoB*、*gdhA*、*bpp*、*yedZ*、*ceg*、*pccA*、*pqq-mdh*、*ureC* 和 *gcd*。*cdaR*、*mxoF*、*frdA* 和 *phoX* 的非 0 值分别有 11、54、56、40 个，分别与 14、52、49、37 个基因显著相关。

amyX、*cdh*、*iso-plu*、*dsrB* 和 *nasA* 的非 0 值均仅有 10、17、14、19、15 个，但分别与 24、40、20、43、31 个基因显著相关，这些基因出现在较少的样品中，但与其他较多基因显著相关，可能出现在某一类共同的细菌中。

速效氮（AN）仅与 *bpp* 基因显著正相关（ $r=0.754$ ， $P=0.019$ ），该磷循环功能基因可能受到速效氮的显著影响。

2.2.4 真菌纲、部分主要目、科和功能基因的相关性

由图 4 可知，银耳纲（Tremellomycetes）与 16S 和其他 40 个功能基因显著正相关，包括 8 个碳降解基因 *lig*、*ceg*、*glx*、*manB*、*mnp*、*chiA*、*xylA*、*apu*，6 个碳固定基因 *mct*、*korA*、*accA*、*acsA*、*pccA*、*smtA*，4 个甲烷代谢基因 *mmoX*、*mxoF*、*pmoA*、*pqq-mdh*，13 个氮循环基因 *amoA1*、*nosZ1*、*ureC*、*narG*、*nifH*、*nirK2*、*nirS1*、*hcsB*、*nirS3*、*nosZ2*、*amoB*、*napA*、*nirK1*、*gdhA*，5 个磷循环基因 *bpp*、*ppk*、*pqqC*、*gcd*、*phnK*，4 个硫循环基因 *apsA*、*soxY*、*dsrA*、*yedZ*。

肉座菌目（Hypocreales）与 16S 和其他 15 个功能基因显著相关，其中与 4 个碳降解基因 *abfA*、*ceg*、*sga*、*xylA*，4 个碳固定基因 *frdA*、*acsA*、*acsE*、*pccA*，4 个磷循环基因 *phoX*、*phnK*、*ppx*、*gcd*，与 1 个硫循环基因 *dsrB* 都呈正相关，与两个氮循环基因分别正相关（*ureC*）和负相关（*hao*）。

从赤壳科（Nectriaceae）与 16S 和其他 14 个功能基因显著相关，包括 4 个碳降解基因 *abfA*、*ceg*、*naglu*（负相关）、*sga*，4 个碳固定基因 *frdA*、*acsA*、*acsE*、*pccA*，2 个氮循环基因 *ureC*（正相关）、*hao*（负相关），4 个磷循环基因 *phoX*、*phnK*、*ppx*、*gcd*。

球囊菌纲（Glomeromycetes）与 9 个功能基因负相关，包括 3 个碳降解基因 *Lig*、*glx*、*apu*，1 个碳固定基因 *accA*，3 个甲烷代谢基因 *mxoF*、*pmoA*、*pqq-mdh*，1 个氮循环基因 *nirS3*，1 个硫循环基因 *dsrA*。

3 讨论与结论

3.1 木薯缓释肥对真菌群落组成的影响

本研究表明门水平上的优势菌门为子囊菌门，

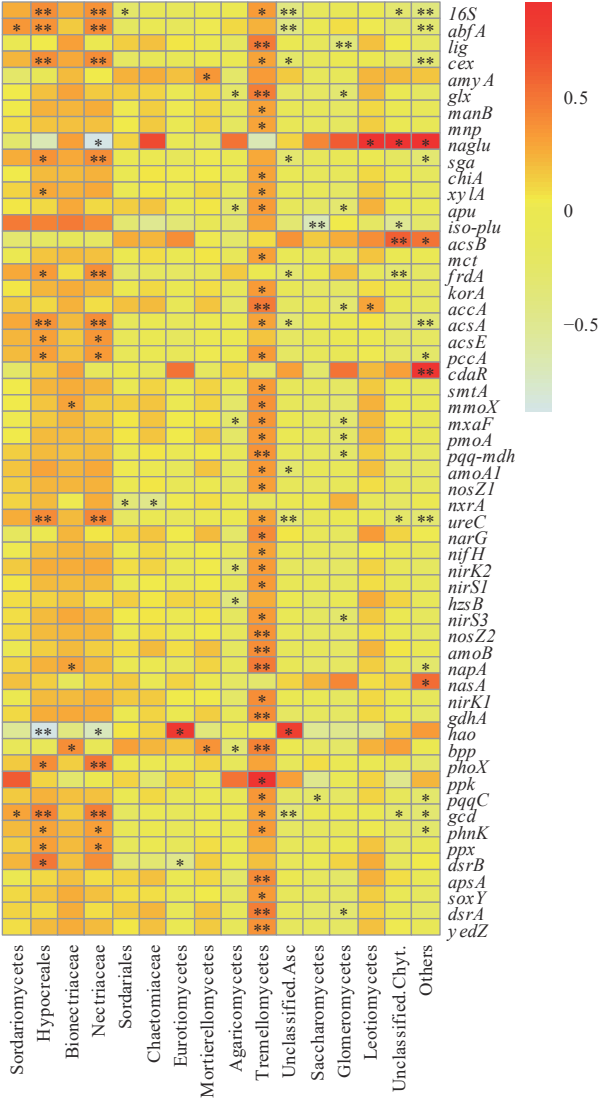


图 4 真菌纲和部分主要目和科和功能基因的相关性
Fig. 4 Correlation between functional genes and some major orders and families of fungi

其后依次是被孢霉门、担子菌门、球囊菌门、壶菌门等。这与韦云东等^[13]的研究结果类似。按营养方式的不同，可将真菌分为腐生营养型、共生营养型和病原型。子囊菌门的相对丰度较高，原因可能有两个：一是子囊菌门大多为腐生营养型，是土壤中有有机物质的主要分解者，施加缓释肥会增加土壤养分含量，而丰富的养分为子囊菌门提供了适宜的生长条件，从而导致子囊菌门相对丰度增加^[20]。二是子囊菌的繁殖能力极强，能产生大量无性孢子，且生长迅猛，使其在数量上占显著优势^[21]。此外，子囊菌是生态系统碳氮循环的重要驱动因素，其在土壤稳定性、植物生物量分解中发挥作用，还可与植物形成共生关系^[22]。担子菌门能很好地降解木质素，与植物形成菌根，促进根系对水分和矿质元素的吸收，改善土壤的物理性质，同时分泌抗菌物质

抑制土壤病原菌的生长,保护宿主植物免受病原菌侵袭^[23]。担子菌在土壤质量较好的环境里数量较多^[24],说明本研究的土壤环境条件良好。球囊菌门可促进植物吸收土壤中的无机盐,特别是磷的吸收,在改善根系功能的同时还可提高宿主植物的抗逆性^[25]。壶菌门中部分菌群可寄生在高等植物上,其游动孢子是一些土壤病毒的媒介^[26]。因此,在木薯栽培过程中应增加子囊菌门、担子菌门、球囊菌门等真菌的数量,减少壶菌门等真菌的数量。

3.2 木薯缓释肥对真菌群落 α -多样性的影响

通过分析 Sobs、ACE、Chao1、Simpson 和 Shannon 指数,研究发现:(1)不施肥和基施 C2 在 104 d 提高了根际真菌丰度,但植后 34 d 施 C2 提高了植后 134 d 根际真菌丰度,说明施肥时间影响木薯根际真菌丰度,不施肥和基施 C2 提高了木薯块根形成期至膨大期的根际真菌丰度,植后 34 d 施 C2 则提高了木薯块根膨大期的根际真菌丰度。(2)C2 基施和植后 34 d 施用均在 77 d 比不施肥提高了根际真菌多样性,说明施肥可提高木薯块根形成期的根际真菌丰度。(3)不施肥处理植后 104 d 根际真菌多样性高于 77 d,基施 C2 则在显著提高 77 d 的根际真菌多样性后,到 104 d 显著降低到与 CK 相同的正常水平。同样可以说明施肥会影响木薯根际真菌的多样性。

3.3 木薯缓释肥对 C、N、P、S 功能基因的影响

微生物是土壤磷循环的主要驱动者,*phoD* 和 *phoX* 碱性磷酸酶基因负责催化磷酸单酯和磷酸二酯水解,其中 *phoD* 基因被认为是土壤中最重要碱性磷酸酶基因。在本研究中,*phoD* 仅在 77 d 的 T1 和 T2 根际的分别 1 个样品中出现,可能是跟 *phoD* 是碱性磷酸酶基因,而真菌主要通过分泌酸性磷酸酶促进有机磷矿化有关^[27]。*gcd* 是负责编码一种介导无机磷溶酶的基因,是决定土壤中生物可利用磷的主要因素^[28]。本研究发现,*gcd* 在 134 d T1 非根际土壤中的丰度显著高于根际土壤,说明在块根膨大期,木薯吸收利用磷的活动相对不活跃。

土壤氮循环包括生物固氮、氨同化作用、硝化作用和反硝化作用等四个过程^[29]。*nasA* 是参与氨同化作用的主要功能基因之一。参与硝化作用的主要功能基因是 *hao* 和 *nxrA*。研究结果表明,*hao* 仅与 *amoA2* 功能基因显著相关,是因为两者是关联基因,*amoA2* 是催化 $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_2^+\text{OH}$ 的关键基因,而 *hao* 是催化 $\text{NH}_2^+\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^-$ 的关键基因。*nasA* 和 *hao* 在 77 d 和 104 d 出现,未在 134 d 的样品中出现,说明木薯的硝化作用主要发生在块根形成期,将肥料中的铵态氮转化成硝态氮。*nxrA* 起到亚硝酸氧化的

作用,与 3 个反硝化基因 *nosZ2*、*napA*、*nirK2* 显著相关。参与反硝化过程的主要功能基因包括:*napA*、*narG*、*nirS*、*nirK* 和 *nosZ*。根据结构不同,*nirS* 功能基因可分为 I 型 (*nirS1*)、II 型 (*nirS2*) 和 III 型 (*nirS3*),在本试验中,*nirS2* 在所有样品中缺失,而 *nirS1* 和 *nirS3* 可在样品中发现。陈晨等^[30]研究表明长期施用有机肥会显著提高 *nirK*、*nirS*、*nosZ* 反硝化基因的丰度,但是本试验中施缓释肥对这几个功能基因丰度影响并不显著,可能跟施用肥料不同有关。参与固氮作用的主要功能基因是 *nifH*,该关键基因常用于评估农业环境中微生物群落的固氮作用和潜力^[31]。本试验中 *nifH* 在处理间无显著性差异,可能是不同施肥处理之间的氮浓度还不足以影响生物固氮,这和钱佳彤^[32]的研究结果相似。

土壤有机碳的主要来源是植物凋落物和根系分泌物,其主要化学成分包括糖类、蛋白质、纤维素、半纤维素、木质素以及脂类等^[33]。真菌有突出的分解能力,其中子囊菌和担子菌是真菌门类中土壤有机碳分解的主要参与者。本研究结果表明土壤半纤维素酶有关基因 *abfA*、木质素有关基因 *mnp* 分别与子囊菌门-粪壳菌纲-肉座菌目-丛赤壳科、担子菌门-银耳纲呈极显著正相关和显著正相关,暗示子囊菌、担子菌可能分别参与半纤维素、木质素的降解过程中。这与 Bastida^[34] 和 Yelle^[35] 的研究结果一致。在根际土壤中,碳固定基因 *aclB* 和碳降解基因 *chiA* 的丰度均为 77 d 高于 104 d 和 134 d,说明在木薯块根形成期,碳固定和碳降解活动较为活跃,为木薯生长提供有机质。

3.4 木薯缓释肥和真菌对土壤速效养分的影响

本研究发现银耳纲与 40 个功能基因显著正相关,包括碳降解基因、碳固定基因、甲烷代谢基因、氮循环基因、磷循环基因和硫循环基因;肉座菌目与 15 个功能基因显著相关,包括碳降解基因、碳固定基因、氮循环基因、磷循环基因和硫循环基因。这暗示银耳纲和肉座菌目等可能参与土壤养分的循环。真菌可能通过分泌有机酸影响功能基因和溶解矿物中的养分而影响土壤速效养分,例如真菌分泌导致含氮化合物解聚的外泌酶,参与土壤的氮循环^[36]。土壤速效养分可能通过改变土壤 pH,进而影响微生物的群落结构^[37]。例如李航等^[38]研究发现不同施肥处理通过改变土壤养分影响真菌群落结构。这说明银耳纲和肉座菌目等可能通过分泌有机酸而影响土壤速效养分,土壤速效养分则可能通过改变土壤 pH 而影响银耳纲和肉座菌目等真菌群落。

速效钾作为代谢过程中渗透稳定性的重要物质^[39],

在104 d与31个功能基因显著相关，可能是速效钾在木薯块根形成期至块根膨大期，木薯生理生化代谢活动较大，为维持自身渗透压的稳定性，需要大量的速效钾离子参与。速效氮仅与*rbcL*显著正相关，*rbcL*基因是编码核酮糖二磷酸羧化酶，该酶是羧化还原作用固定CO₂的关键酶。这可能跟土壤碳氮循环有关基因的表达具有耦合作用有关^[32]。

综上所述，双膜缓释肥C2基施（T2）和植后34 d施用（T3）可提高木薯根际真菌群落的多样性和相对丰度，施肥、时间、根际等都对真菌群落结构和功能基因有显著的影响，相关性分析结果暗示木薯根际真菌可能参与土壤速效养分的循环和功能基因的作用。

参考文献：

- [1] FENG S, FU D D, HAN X R, et al. Impacts of the extension of cassava soil conservation and efficient technology on the reduction of chemical fertilizer input in China [J]. *Sustainability*, 2022, 14(22): 15052.
- [2] 韦云东, 周时艺, 陈蕊蕊, 等. 木薯缓释肥和地膜/地布覆盖对木薯生长的影响 [J]. *中国农学通报*, 2023, 39 (22): 16–22.
WEI Y D, ZHOU S Y, CHEN R R, et al. Effects of slow-release fertilizer application and film mulching on growth of cassava [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2023, 39(22): 16–22. (in Chinese)
- [3] 柳玲玲, 顾小凤, 魏全全, 等. 生物有机肥配施缓释肥对连作马铃薯提质增产效果研究 [J]. *安徽农业科学*, 2023, 51 (17): 129–131.
LIU L L, GU X F, WEI Q Q, et al. Study on the effect of biological organic fertilizer with slow release fertilizer on the quality improvement of continuous potato [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2023, 51(17): 129–131. (in Chinese)
- [4] REN T T, YU X Y, LIAO J H, et al. Application of biogas slurry rather than biochar increases soil microbial functional gene signal intensity and diversity in a poplar plantation [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 146: 107825.
- [5] LI S, LIANG H, WANG Y, et al. Responses of functional genes involved in nitrogen cycling to green manuring in different paddy soils in South China [J]. *Plant and Soil*, 2022, 478(1): 519–532.
- [6] 周时艺, 韦云东, 陈蕊蕊, 等. 不同缓释肥对木薯生长和土壤速效养分的影响 [J]. *江西农业学报*, 2022, 34 (4): 100–104.
ZHOU S Y, WEI Y D, CHEN R R, et al. Effects of different slow-release fertilizers on cassava growth and soil available nutrients [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2022, 34(4): 100–104. (in Chinese)
- [7] 周时艺, 韦云东, 陈蕊蕊, 等. 缓释肥不同施用深度对木薯生长的影响 [J]. *湖南农业大学学报 (自然科学版)*, 2023, 49 (2): 140–144.
ZHOU S Y, WEI Y D, CHEN R R, et al. Effects of fertilization depth of slow-release fertilizer on cassava growth [J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 2023, 49(2): 140–144. (in Chinese)
- [8] 覃锋燕, 杨慰贤, 彭晓辉, 等. 粉垄耕作木薯根际与非根际土壤的细菌群落结构多样性差异 [J]. *西南农业学报*, 2022, 35 (4): 729–739.
- [9] QIN F Y, YANG W X, PENG X H, et al. Difference in the diversity of bacterial community structure in rhizosphere and non-rhizosphere soil of cassava in Fenlong tillage [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 35(4): 729–739. (in Chinese)
- [9] 蔡杰, 张洁, 喻珊, 等. 施肥方式对木薯根际土壤细菌多样性与群落结构特征的影响 [J]. *福建农林大学学报 (自然科学版)*, 2022, 51 (1): 15–20.
CAI J, ZHANG J, YU S, et al. Effect of fertilization on bacterial diversity and community structure characteristics in cassava rhizospheric soil [J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2022, 51(1): 15–20. (in Chinese)
- [10] 韦云东, 罗燕春, 郑华, 等. 根袋法获取木薯根际土壤及其细菌群落特征研究 [J]. *热带作物学报*, 2020, 41 (9): 1928–1938.
WEI Y D, LUO Y C, ZHENG H, et al. Cassava rhizosphere soil collected by “root bag” method and its bacteria diversity [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2020, 41(9): 1928–1938. (in Chinese)
- [11] LI L W, SHEN Z Y, QIN F Y, et al. Effects of tillage and N applications on the cassava rhizosphere fungal communities [J]. *Agronomy*, 2023, 13(1): 237.
- [12] CAI J, ZHANG J, DING Y, et al. Different fertilizers applied alter fungal community structure in rhizospheric soil of cassava (*Manihot esculenta* crantz) and increase crop yield [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 663781.
- [13] 韦云东, 罗燕春, 郑华, 等. 基于高通量测序的木薯根域土壤微生物群落结构研究 [J]. *农业研究与应用*, 2021, 34 (1): 1–14.
WEI Y D, LUO Y C, ZHENG H, et al. Study on soil microbial community structure in cassava rhizosphere by high-throughput sequencing techniques [J]. *Agricultural Research and Application*, 2021, 34(1): 1–14. (in Chinese)
- [14] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
BAO S D. Soil agrochemical analysis (third edition) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000. (in Chinese)
- [15] YANG W, ZHANG D, CAI X W, et al. Significant alterations in soil fungal communities along a chronosequence of *Spartina alterniflora* invasion in a Chinese Yellow Sea coastal wetland [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 693: 133548.
- [16] 张洁洁, Anders Priemé, 陈显轲, 等. 基于 QMEC 分析的青藏高原不同类型冰川前缘地土壤微生物功能潜力 [J]. *环境科学*, 2023, 44 (1): 512–519.
ZHANG J J, PRIEMÉ A, CHEN X K, et al. QMEC-based analysis of the soil microbial functional potentials across different Tibetan Plateau glacier forelands [J]. *Environmental Science*, 2023, 44(1): 512–519. (in Chinese)
- [17] ZHENG B X, ZHU Y G, SARDANS J, et al. QMEC: A tool for high-throughput quantitative assessment of microbial functional potential in C, N, P, and S biogeochemical cycling [J]. *Science China Life Sciences*, 2018, 61(12): 1451–1462.
- [18] LI H Z, BI Q F, YANG K, et al. High starter phosphorus fertilization facilitates soil phosphorus turnover by promoting microbial functional interaction in an arable soil [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2020, 94: 179–185.
- [19] ZHANG Y X, LI X, XIAO M, et al. Effects of microplastics on soil carbon dioxide emissions and the microbial functional genes involved

- in organic carbon decomposition in agricultural soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 806(Pt 3): 150714.
- [20] 白小龙, 张恩, 武晋民, 等. 不同改良物料对盐碱土壤真菌群落结构的影响[J]. *环境科学*, 2024, 45 (6): 3562–3570.
- BAI X L, ZHANG E, WU J M, et al. Effects of different modified materials on soil fungal community structure in SalineAlkali soil [J]. *Environmental Science*, 2024, 45(6): 3562–3570. (in Chinese)
- [21] AL-SADI A M, AL-MAZROU 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.
- [22] CHALLACOMBE J F, HESSE C N, BRAMER L M, et al. Genomes and secretomes of Ascomycota fungi reveal diverse functions in plant biomass decomposition and pathogenesis [J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 976.
- [23] 刘子凡, 刘培培, 闫文静, 等. 间作木薯对橡胶树根际土壤真菌群落结构的影响[J]. *热带作物学报*, 2020, 41 (3): 609–614.
- LIU Z F, LIU P P, YAN W J, et al. Effects of rubber-cassava intercropping on soil fungal community structure in rhizosphere of rubber trees [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2020, 41(3): 609–614. (in Chinese)
- [24] 姚丽娟, 田春丽, 王立河, 等. 设施西瓜连作土壤生化性质及微生物群落变化[J]. *中国土壤与肥料*, 2024, (3): 70–78.
- YAO L J, TIAN C L, WANG L H, et al. Changes of soil biochemical properties and microbial community in continuous cropping of watermelon under greenhouse cultivation [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2024(3): 70–78. (in Chinese)
- [25] 常芳娟, 张贵云, 张丽萍, 等. 生物炭对西瓜连作土壤真菌群落结构和功能类群的影响[J]. *环境科学*, 2024, 45 (6): 3553–3561.
- CHANG F J, ZHANG G Y, ZHANG L P, et al. Effects of biochar application on the structure and function of fungal community in continuous cropping watermelon soil [J]. *Environmental Science*, 2024, 45(6): 3553–3561. (in Chinese)
- [26] GOULD A B. Fungi: plant pathogenic[M]//*Encyclopedia of Microbiology*. Amsterdam: Elsevier, 2009: 457–477.
- [27] PLASSARD C, LOUCHE J, ALI M A, et al. Diversity in phosphorus mobilisation and uptake in ectomycorrhizal fungi [J]. *Annals of Forest Science*, 2011, 68(1): 33–43.
- [28] LIANG J L, LIU J, JIA P, et al. Novel phosphate-solubilizing bacteria enhance soil phosphorus cycling following ecological restoration of land degraded by mining [J]. *The ISME Journal*, 2020, 14(6): 1600–1613.
- [29] ZHOU J, GUAN D W, ZHOU B K, et al. Influence of 34-years of fertilization on bacterial communities in an intensively cultivated black soil in Northeast China [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 90: 42–51.
- [30] 陈晨, 许欣, 毕智超, 等. 生物炭和有机肥对菜地土壤 N_2O 排放及硝化、反硝化微生物功能基因丰度的影响[J]. *环境科学学报*, 2017, 37 (5): 1912–1920.
- CHEN C, XU X, BI Z C, et al. Effects of biochar and organic manure on N_2O emissions and the functional gene abundance of nitrification and denitrification microbes under intensive vegetable production [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2017, 37(5): 1912–1920. (in Chinese)
- [31] WAKELIN S A, COLLOFF M J, HARVEY P R, et al. The effects of stubble retention and nitrogen application on soil microbial community structure and functional gene abundance under irrigated maize[J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2010(3): 661–670. DOI:10.1111/j.1574-6941.2006.00235.x.
- [32] 钱佳彤. 不同轮作与施肥方式下土壤固碳特征及碳氮转化研究[D]. 重庆: 西南大学, 2021.
- QIAN J T. Study on soil carbon fixation characteristics and carbon and nitrogen transformation under different rotation and fertilization [D]. *Chongqing: Southwest University*, 2021. (in Chinese)
- [33] 裴理鑫. 黄渤海滨海湿地土壤微生物群落结构对碳循环的影响及其对增温响应[D]. 武汉: 中国地质大学, 2021.
- PEI L X. Effects of soil microbial community on carbon cycle and its response to warming in coastal wetlands of the Yellow-Bohai Sea [D]. *Wuhan: China University of Geosciences*, 2021. (in Chinese)
- [34] BASTIDA F, TORRES I F, MORENO J L, et al. The active microbial diversity drives ecosystem multifunctionality and is physiologically related to carbon availability in Mediterranean semi-arid soils [J]. *Molecular Ecology*, 2016, 25(18): 4660–4673.
- [35] YELLE D J, RALPH J, LU F C, et al. Evidence for cleavage of lignin by a brown rot basidiomycete [J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(7): 1844–1849.
- [36] LI Y C, LI Y F, CHANG S X, et al. Bamboo invasion of broadleaf forests altered soil fungal community closely linked to changes in soil organic C chemical composition and mineral N production [J]. *Plant and Soil*, 2017, 418(1): 507–521.
- [37] YANG W H, LI C J, WANG S S, et al. Influence of biochar and biochar-based fertilizer on yield, quality of tea and microbial community in an acid tea orchard soil [J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 166: 104005.
- [38] 李航, 苏梦迪, 黄浪平, 等. 氮磷钾配施对植烟土壤速效养分和真菌多样性的影响[J]. *作物杂志*, 2023, (3): 238–245.
- LI H, SU M D, HUANG L P, et al. Effects of nitrogen, phosphorus and potassium application on available nutrients and fungal diversity in tobacco-growing soil [J]. *Crops*, 2023(3): 238–245. (in Chinese)
- [39] 李鹏, 颜培栋, 杨章旗, 等. 施肥对马尾松中龄林生长、产脂量和土壤养分的短期影响[J]. *广西科学*, 2023, 30 (2): 239–250.
- LI P, YAN P D, YANG Z Q, et al. Short-term effects of fertilization on the growth, resin yield and soil nutrient characteristics of middle-aged *Pinus massoniana* plantation [J]. *Guangxi Sciences*, 2023, 30(2): 239–250. (in Chinese)

(责任编辑: 于洪杰)