

不同产量下天麻根际土壤微生物多样性分析

罗影子^{1,2}, 黄明进^{1,2*}, 王大昌^{1,2}, 李诚¹, 郭刚³, 刘红昌^{1,2}, 张明生⁴, 赵致^{1,2},
阮松林⁵, 文庭池⁶

(1. 贵州大学农学院, 贵阳 550025;

2. 贵州省药用植物繁育与种植重点(工程)实验室, 贵阳 550025;

3. 毕节农业农村局, 贵州 毕节 551500; 4. 贵州大学生命科学学院, 贵阳 550025;

5. 杭州市农业科学研究院农作物研究所, 杭州 310024;

6. 贵州大学西南药用生物资源教育部工程研究中心, 贵阳 550025)

[摘要] 目的:分析不同产量下天麻根际微生物的多样性,探讨土壤微生物对天麻产量的影响。方法:该试验采用16S DNA和内转录间隔区(ITS)序列高通量测序对天麻根际土壤中高产土样(GC)和低产土样(DC)下的细菌和真菌群落多样性进行分析。结果:天麻根际土壤中细菌占主导地位的有变形杆菌门 Proteobacteria、厚壁菌门 Firmicutes 和其他不明细菌 unidentifed Bacteria,真菌占主导的为子囊菌门 Ascomycota、担子菌门 Basidiomycota、被孢霉门 Mortierellomycota;高产和低产天麻根际土壤中微生物群落丰度没有差异,仅在群落组成上存在显著差异,高产天麻根际土壤中慢生根瘤菌 *Bradyrhizobium*、施氏乳酸杆菌属 *Schleiferilactobacillus*、古根菌属 *Archaeorhizomyces* 等38属微生物大量聚集,低产天麻根际土壤中则镰刀菌属 *Fusarium*、鬼伞属 *Coprinellus*、氨氧化古菌属 *Nitrosotalea* 等30属微生物大量聚集;在属和种的水平上,发现6个差异物种,绒紫红菇 *Russula mariae*、古根菌属 *Archaeorhizomyces*、土赤壳属 *Ilyonectria* 偏向集中于高产天麻根际土壤中,氨氧化古菌属 *Nitrosotalea*、簇生鬼伞 *Coprinellus disseminatus*、镰刀菌属 *Fusarium* 则偏向集中于低产天麻根际土壤中。结论:在不同产量下,天麻根际土壤中的真菌群落和细菌群落中均存在差异微生物,推测这些微生物与天麻产量高低有关,研究结果可为后续天麻的高产研究提供重要的理论基础。

[关键词] 天麻; 产量; 土壤微生物; 多样性; 丰度

[中图分类号] R284.2;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)01-0133-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20221515

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220916.1412.001.html>

[网络出版日期] 2022-09-17 12:54

Microbial Diversity in Rhizosphere Soil of *Gastrodia elata* with Different Yields

LUO Yingzi^{1,2}, HUANG Mingjin^{1,2*}, WANG Dachang^{1,2}, LI Cheng¹, GUO Gang³, LIU Hongchang^{1,2},
ZHANG Mingsheng⁴, ZHAO Zhi^{1,2}, RUAN Songlin⁵, WEN Tingchi⁶

(1. College of Agricultural, Guizhou University, Guiyang 550025, China;

2. Guizhou Key Laboratory of Propagation and Cultivation on Medicinal Plants, Guiyang 550025, China;

3. Bijie Agriculture and Rural Bureau, Bijie 551500, China;

4. College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China;

5. Institute of Crop Sciences, Hangzhou Academy of Agriculture Sciences, Hangzhou 310024, China;

6. The Engineering and Research Center for Southwest Bio-pharmaceutical Resources of National Education Ministry of China, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

[收稿日期] 2022-07-20

[基金项目] 2020年省级农业生产发展专项[黔财农(2020)101];2019年中央农业生产发展专项[黔财农(2019)175];杭州市科技发展计划项目(2020ZDSJ0891)

[第一作者] 罗影子, 硕士, 从事药用植物栽培与鉴定研究, E-mail: 792430690@qq.com

[通信作者] * 黄明进, 博士, 副教授, 从事药用植物栽培与利用研究, E-mail: hmjctm@163.com

[Abstract] Objective: To analyze the microbial diversity in the rhizosphere soil of *Gastrodia elata* with different yields and explore the influence of soil microorganisms on the yield of *G. elata*. **Method:** The experiment adopted the 16S DNA and ITS high-throughput sequencing technologies to study the diversity of the bacterial and fungal community in the rhizosphere soil of *G. elata* with high yield (GC) and low yield (DC). **Result:** Proteobacteria, Firmicutes, and other unidentified Bacteria were dominant in the rhizosphere soil of *G. elata*. The dominant rhizosphere fungi were Ascomycota, Basidiomycota, and Mortierellomycota. There was no significant difference in microbial community abundance in the high-yield and low-yield rhizosphere soil of *G. elata*, but there was a significant difference in species composition. Thirty-eight microbes such as *Bradyrhizobium*, *Schleiferilactobacillus*, and *Archaeorhizomyces* were gathered in large numbers in the high-yield rhizosphere soil, and thirty microbes such as *Fusarium*, *Coprinellus*, and *Nitrosotalea* were gathered in large numbers in the low-yield rhizosphere soil. At the level of genus and species, there were six different species in the high-yield and low-yield rhizosphere soil of *G. elata*, among which *Russula mariae*, *Archaeorhizomyces*, and *Ilyonectria* were gathered in the high-yield rhizosphere soil of *G. elata*, while *Nitrosotalea*, *Coprinellus disseminatus*, and *Fusarium* were gathered in the low-yield rhizosphere soil of *G. elata*. **Conclusion:** There are different microorganisms in the rhizosphere soil of *G. elata* with different yields, and it is speculated that these microorganisms are related to the yields of *G. elata*. The research results are expected to provide a vital theoretical basis for the follow-up study of the high yield of *G. elata*.

[Keywords] *Gastrodia elata*; yield; soil microbe; diversity; abundance

天麻为兰科植物天麻(*Gastrodia elata*)的干燥块茎,具有息风止痉,平抑肝阳,祛风通络等功效,是一种传统名贵中药^[1]。作为完全异养型植物,天麻80%以上的时间都生活在地下,需要与小菇属真菌共生才能萌发,与蜜环菌共生才能获得生长所需营养^[2]。

药用植物与根际微生物关系密切,存在药用植物根际的微生物种群结构及其代谢产物对植物的生长发育、产量、质量及抗逆能力有重要的影响^[3-4]。例如,嗜麦芽寡养单胞菌、荧光假单胞菌可以促进贯叶连翘的生长^[5]。滇重楼根际真菌可提高土壤矿物质营养元素的含量,促进其生长和品质形成^[6]。蜜环菌促进天麻碳循环,在蜜环菌侵入前,存在多种细菌与天麻相互作用^[6],侵染后,蜜环菌与天麻共生,蜜环菌的生产种类型、菌索分支状况、菌索生长速度,菌索粗壮程度、活力等都在影响着天麻的生长,从而调控天麻产量的高低^[7-10],除此之外,LIU等^[11]在天麻根际土壤中还发现了可促生蜜环菌和天麻生长的 *Rahnella* 细菌。然而,随着仿野生栽培模式的扩大,大量的蜜环菌和菌材溶入土壤中,导致土壤微生物平衡被打破,微生物菌群多样性发生变化,有害菌种类增加,由 *Ilyonectria cyclaminicola*、*Fusarium*、*Ilyonectria* 等微生物引起的土传病害或连作障碍等可阻碍天麻生长,导致其减产,甚至绝收^[12-14]。由此推测,根际土壤微生物的稳定性变化

可影响蜜环菌或者天麻的生长,进而调控其产量的高低。然而人们对于微生物如何影响蜜环菌和天麻生长知之甚少,除了在菌材种类^[15]、病害^[13]、种植模式、连作障碍^[16]等方面有报道,其他未见详细报道。到目前为止,关于微生物群落与天麻产量的相关联系还没有定论。本试验比较了不同产量下天麻根际土壤微生物细菌和真菌群落的多样性,探讨引起天麻产量变化的微生物,试图为后期筛选友好的天麻共生微生物,研制天麻菌剂提供一定的理论依据。

1 材料

土壤样品采集于贵州省毕节市七星关区千溪乡沙垮村,毕节稷农生态农业有限公司仿野生天麻种植基地(121°34'58"E, 31°12'20"N),海拔1350 m,基地位于林下,未种植过农作物。

2021年12月采集土壤样品,选择300 m²面积范围内的高产量、低产量2个梯度的天麻根际土壤,分别编号为高产土样(GC),低产土样(DC)土壤。见表1。

2 方法

2.1 土壤样品的采集 取样时,先用无菌铁铲除去地表落叶及0~5 cm的腐殖质层,打开种植天麻的整个麻穴,将菌材取出,再用无菌毛刷将天麻块茎表面厚度约5 mm的土壤轻轻刷入无菌自封袋中,放入冰盒内24 h内运回实验室冰箱保存。GC取样

表1 天麻产量信息

Table 1 Information of *Gastrodia elata* yield

| 组别 | 编号 | 产量/kg·m ² |
|----|--------|----------------------|
| GC | QGGGC1 | 6.36 |
| | QGGGC2 | 5.90 |
| | QGGGC3 | 7.51 |
| DC | QGGDC1 | 0.65 |
| | QGGDC2 | 2.79 |
| | QGGDC3 | 0.3 |

高产天麻块茎周围土壤,DC取样低产天麻块茎周围土壤,均随机采集3个生物学重复,共采集6份样品,过2 mm筛,保存于-80 °C,用于做Illumina高通量测序。土壤微生物测序工作委托诺禾致源生物科技股份有限公司检测。

2.2 扩增子测序及数据处理 样品采用CTAB方法对其DNA进行提取,根据测序区域的选择,使用带Barcode的特异引物分别进行细菌16S V4和真菌内转录间隔区(ITS)扩增,细菌16S V4扩增引物为515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'),真菌引物为ITS5-1737F(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和ITS2-2043R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGAT6GC-3')。再根据Barcode序列和聚合酶链式反应(PCR)扩增引物序列从下机数据中拆分出各样本数据,截去Barcode和引物序列后使用FLASH(V1.2.7)对样本的reads进行拼接、过滤,最后与物种注释数据库进行比对检测嵌合体序列,得到最终的有效数据。

表2 2组土壤样品测序数据信息统计

Table 2 Information of sequencing data in soil samples of two groups

| 样品名称 | 16S | | | | ITS | | | |
|--------|--------|------------|-------|---------|--------|------------|-------|---------|
| | 序列数/条 | 碱基数/nt | 长度/nt | 质控有效率/% | 序列数/条 | 碱基数/nt | 长度/nt | 质控有效率/% |
| QXGGC1 | 67 385 | 17 044 553 | 253 | 72.39 | 74 782 | 16 932 533 | 226 | 93.12 |
| QXGGC2 | 65 649 | 16 607 513 | 253 | 76.54 | 81 319 | 20 436 884 | 251 | 89.29 |
| QXGGC3 | 69 994 | 17 709 729 | 253 | 78.43 | 74 787 | 19 373 557 | 259 | 93.67 |
| QXGDC1 | 68 878 | 17 431 420 | 253 | 72.70 | 73 759 | 18 036 154 | 245 | 93.38 |
| QXGDC2 | 63 839 | 16 153 328 | 253 | 76.63 | 76 157 | 19,344 541 | 254 | 90.88 |
| QXGDC3 | 63 358 | 16 031 705 | 253 | 74.91 | 78 239 | 18 837,286 | 241 | 91.84 |

3.2 土壤细菌和真菌群落结构多样性比较分析

样本复杂度分析可初步判断各组之间微生物群落结构丰富度和多样性的差异,通过对Alpha多样性分析,发现在两组样品中,不管是细菌群落还是真菌群落,Shannon指数、Simpson指数、Chao1指

2.3 测序数据的注释 利用Uparse算法(Uparse v7.0.1001)以97%的一致性将序列聚类成为多个分类单元(OTUs),选择出现频率最高的序列作为OTUs的代表序列。使用Mothur方法与SILVA 138的SSUrRNA数据库对OTUs序列进行物种注释分析(设定阈值0.8-1),以获得分类学信息并分别在各个分类水平:界(Kingdom),门(Phylum),纲(Class),目(Order),科(Family),属(Genus),种(Species)统计各样本的群落组成。使用MUSCLE软件进行快速多序列比对,得到所有OTUs代表序列的系统发生关系。

2.4 数据分析 在Alpha多样性和Beta多样性的分析中,利用Qiime软件(Version 1.9.1)和R软件(Version 2.15.3),Qiime软件对Chao1、Shannon、Simpson和ACE指数进行分析,同时计算Unifrac距离、构建非加权组平均法(UPGMA)样本聚类树。采用R软件进行主成分分析(PCA)、主坐标分析(PCoA)、非度量多维尺度分析(NMDS)和组间差异分析。使用LEfSe软件进行LEfSe分析,估算每个组分丰度及差异效果影响的大小。

3 结果与分析

3.1 16S和ITS扩增子测序质量分析 通过对两组土壤样品进行扩增子测序,再经过过滤、质控和拼接,平均每样品在细菌群落中得到87 998条有效数据,质控有效数据量达66 517,质控有效率达75.59%。真菌群落中得到82 265条有效数据,质控有效数据量达76 507,质控有效率达93.01%,见表2。测序结果符合要求,可用于后续分析。

数、ACE指数水平上无明显差异,见表3、表4。结果说明高产和低产天麻根际土壤微生物的群落结构多样性和丰富度无明显差异。

3.3 土壤微生物群落组成分析 Unweighted Pair-group Method with Arithmetic Mean(UPGMA)是一

表3 2组土壤样品细菌丰度和多样性 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Abundance and diversity comparative analysis of bacteria in soil samples of two groups ($\bar{x} \pm s, n=3$)

| 组别 | Shannon | Simpson | Chao1 | ACE |
|----|------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------------|
| GC | 2 945.33±133.17 ^a | 9.15±0.23 ^a | 0.99±0.002 ^a | 3 196.99±127.23 ^a |
| DC | 2 947.33±85.55 ^a | 9.15±0.13 ^a | 0.99±0.001 ^a | 3 235.13±104.93 ^a |

注:同一列不同小写字母表示有显著差异 $P < 0.05$ (表4同)

种可以解决分类问题的聚类分析方法,通过样本进行聚类分析,构建聚类树,发现在6个土壤样品中,细菌群落在 Unweighted Unifrac 距离下,GC组聚为一类,DC组聚为一类;在PC1样本差异的贡献值为28.36%时,GC组样品分布于左侧和DC组样品分布

表4 2组土壤样品真菌丰度和多样性 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Abundance and diversity comparative analysis of fungi in soil samples of two groups ($\bar{x} \pm s, n=3$)

| 组别 | Shannon | Simpson | Chao1 | ACE |
|----|--------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|
| GC | 6.203±0.268 ^a | 0.944±0.014 ^a | 938.63±135.59 ^a | 939.08±149.20 ^a |
| DC | 4.673±0.475 ^a | 0.845±0.035 ^a | 911.00±10.07 ^a | 926.26±11.78 ^a |

于右上角,两组土壤样品离散度大。真菌群落在 Weighted Unifrac 距离下,GC组聚为一类,DC组聚为一类;在PC1样本差异的贡献值为54.56%时,GC组样品分布于左侧和DC组样品分布于右侧,两组土壤样品离散度大。见图1。

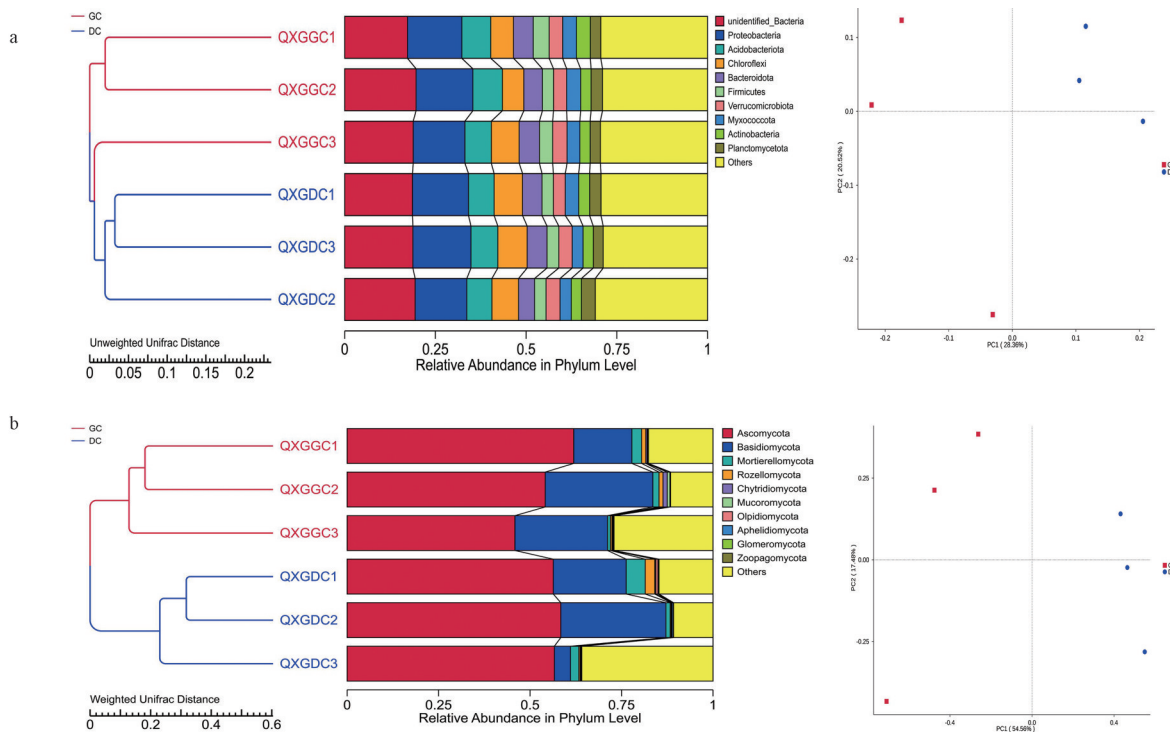


图1 2组土壤样品细菌和真菌门水平UPGMA聚类树和PCA分析

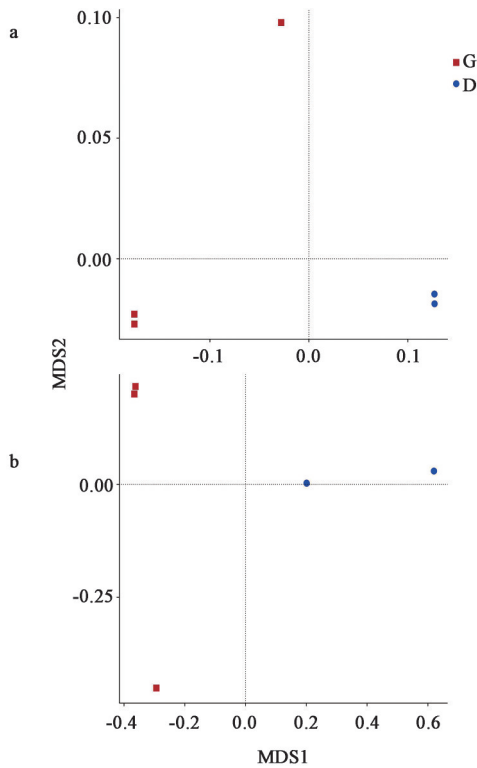
Fig. 1 UPGMA cluster tree and PCA analysis of bacteria and fungi Phylum in soil samples of two groups

通过NMDS分析,根据6个土壤样品的物种信息,以点的形式反映在二维平面上,反映样品的组间和组内差异,发现两组土壤样品的细菌群落和真菌群落中,Stress均 < 0.001 。结果说明高产和低产天麻根际土壤中的细菌和真菌群落组成差异明显。见图2。

3.4 土壤微生物物种分布情况 以97%的相似性阈值对OTUs序列进行物种注释,根据聚类结果绘制韦恩图,发现在两组土壤样品的细菌群落中,GC组有4 569个OTUs,DC组有4 407个OTUs,GC和DC共有的OTUs 3 222个;真菌群落中,GC组有1 516个OTUs,DC组有1 545个OTUs,GC和DC共

有的OTUs 928个。结果说明,在不同产量天麻根际土壤的微生物中,高产天麻根际土壤中细菌群落较为丰富,低产天麻根际土壤中真菌群落较为丰富。见增强出版附加材料。

对两组土壤样品在门水平上前10的微生物绘制柱形图,发现在门水平上,GC和DC细菌群落和真菌群落无明显差异,在细菌群落中变形杆菌门 Proteobacteria、厚壁菌门 Firmicutes、其他不明细菌 unidentified Bacteria 占主导地位;真菌群落中子囊菌门 Ascomycota、担子菌门 Basidiomycota、被孢霉门 Mortierellomycota 占主导地位。见图3。在以往的研究中,也发现天麻根际土壤微生物主要以变形



注: a. 细菌群落; b. 真菌群落(图3同)

图2 2组土壤样品细菌和真菌NMDS分析

Fig. 2 NMDS analysis of bacteria and fungi in soil samples of two groups

菌门 *Proteobacteria*、担子菌门 *Basidiomycota*、子囊菌门 *Ascomycota* 这几类微生物为主,说明这几类微生物对天麻生长有着重要的作用。

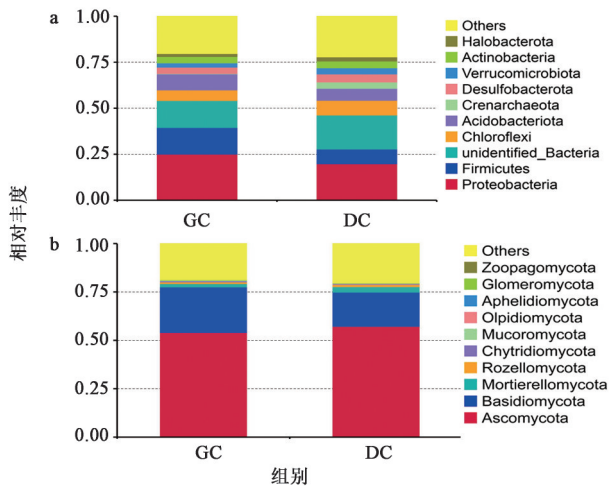


图3 2组土壤样品在细菌和真菌门水平上的物种相对丰度柱形图

Fig. 3 Column diagram of species relative abundance of bacteria and fungi phylum in soil samples of two groups

3.5 土壤微生物物种组成分析 对6个土壤样品在属水平上的细菌和真菌群落绘制物种丰度聚类热图,发现各个样品中优势菌属差异较大,各样品

中群落的组成也各不相同,在细菌群落中,有15种菌属在GC组的土壤样品中大量聚集,18种菌属在DC组的土壤样品中大量聚集;真菌群落中,有23种菌属在GC组的土壤样品中大量聚集,12种菌属在DC组的土壤样品中大量聚集。对GC和DC两组土壤样品中聚集的真菌和细菌丰度进行统计,发现在GC组土壤样品中,以土芽孢杆菌属 *Terrisporobacter*、慢生根瘤菌属 *Bradyrhizobium*、施氏乳酸杆菌属 *Schleiferilactobacillus*、古根菌属 *Archaeorhizomyces*、红菇属 *Russula*、土赤壳属 *Ilyonectria*、丛孢菌属 *Arthrobotrys*、球菌属 *Epicoccum* 和 *Trimorphomycetaceae*、*Ascomycota* 下的不明菌属为优势菌属的38种微生物大量聚集;在DC组土壤样品中,以氨化古菌属 *Nitrosotalea*、甲烷丝状菌属 *Methanosaeta*、厌氧绳菌属 *Anaerolinea*、密斯氏菌属 *Smithella*、镰刀菌属 *Fusarium*、鬼伞属 *Coprinellus*、木霉属 *Trichoderma*、被孢霉属 *Mortierella*、赤霉菌属 *Gibberella* 和 *Helotiales* 下的不明菌属为优势菌属的30种微生物大量聚集,见表5。结果说明,不同产量下天麻根际土壤的细菌和真菌群落组成有显著差异,天麻根际土壤中存在多种优势微生物,可能是导致天麻产量变化的关键微生物,后续需加强此方面的研究。

3.6 土壤微生物差异物种分析 通过对两组样品进行LEfSe分析和LDA分析,找出LDA score>4的biomarker,绘制差异物种进化分支图,发现6个在属和种水平上的差异物种,细菌群落中,氨氧化古菌属 *Nitrosotalea* 在GC、DC的组间差异显著,且偏向于集中在DC组土壤中。真菌群落中,绒紫红菇 *Russula mariae*、古根菌属 *Archeaeorhizomyces*、土赤壳属 *Ilyonectria*、簇生鬼伞 *Coprinellus disseminatus*、镰刀菌属 *Fusarium* 在GC、DC的组间差异显著,但 *Russula mariae*、*Archeaeorhizomyces* sp.、*Ilyonectria* 偏向于集中在GC组土壤中, *Coprinellus disseminatus*、*Fusarium* 偏向于集中在DC组土壤中。结果说明,高产天麻根际和低产天麻根际的土壤中, *Nitrosotalea*、*Russula mariae*、*Archeaeorhizomyces*、*Coprinellus disseminatus*、*Ilyonectria* 6个差异物种可能是引起天麻变化的关键微生物。值得注意的是, *Ilyonectria* 作为天麻有害菌,偏向集中于高产天麻根际的土壤中,由此推测,在天麻根际土壤中,除蜜环菌和病原菌外,还存在其他影响天麻生长的微生物。见图4。

表5 两组土壤样品细菌和真菌群落丰度统计

Table 5 Statistics community abundance of bacteria and fungi in in soil samples of two groups

| 分类 | 组别 | 菌属 | 丰度/% | 分类 | 组别 | 菌属 | 丰度/% | | | |
|---|------|---|-------|-------------------------|------|---|------------------------|-------|-------------------------------|------|
| 真菌 | GC | <i>Archaeorhizomyces</i> | 19.45 | 细菌 | GC | <i>Schleiferilactobacillus</i> | 7.87 | | | |
| | | <i>Russula</i> | 16.72 | | | <i>Terrisporobacter</i> | 4.27 | | | |
| | | <i>Ilyonectria</i> | 9.87 | | | <i>Bradyrhizobium</i> | 2.72 | | | |
| | | <i>Epicoccum</i> | 4.41 | | | <i>Bryobacter</i> | 1.91 | | | |
| | | Trimorphomycetaceae ,genus unidentified | 4.15 | | | <i>Stenotrophomonas</i> | 1.87 | | | |
| | | unidentified <i>Ascomycota</i> sp. | 3.86 | | | <i>Acidibacter</i> | 1.78 | | | |
| | | <i>Arthrobotrys</i> | 3.46 | | | <i>Anoxynatronum</i> | 1.69 | | | |
| | | unidentified <i>Sordariales</i> sp. | 2.63 | | | <i>Haliangium</i> | 1.58 | | | |
| | | <i>Plectosphaerella</i> | 2.36 | | | <i>Lzimiplasma</i> | 1.32 | | | |
| | | <i>Microdochium</i> | 2.15 | | | <i>Puia</i> | 1.09 | | | |
| | | <i>Cyberlindnera</i> | 2.11 | | | <i>Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia</i> | 1.06 | | | |
| | | <i>Calloria</i> | 2.05 | | | <i>Lactococcus</i> | 1.02 | | | |
| | | Hyaloscyphaceae ,genus unidentified | 2.05 | | | <i>Pseudomonas</i> | 1.00 | | | |
| | | <i>Chlorridium</i> | 1.90 | | | <i>Halomonas</i> | 0.84 | | | |
| | | unidentified <i>Basidiomycota</i> sp. | 1.86 | | | <i>JG1-0000079-D21</i> | 0.82 | | | |
| | | unidentified <i>Myrmecridiales</i> sp. | 1.69 | | | DC | <i>Nitrosotalea</i> | 7.15 | | |
| | | Ceratobasidiaceae ,genus unidentified | 1.63 | | | | <i>Methanosaeta</i> | 3.42 | | |
| | | Venturiaceae ,genus unidentified | 1.60 | | | | <i>Anaerolinea</i> | 2.87 | | |
| | | <i>Cladosporium</i> | 1.55 | | | | <i>Smithella</i> | 2.87 | | |
| | | <i>Alatospora</i> | 1.53 | | | | <i>ADurbBin063-1</i> | 2.42 | | |
| | | Nectriaceae ,genus unidentified | 1.51 | | | | <i>MND1</i> | 2.28 | | |
| | | <i>Leptodontidium</i> | 1.45 | | | | <i>Syntrophobacter</i> | 2.15 | | |
| | | <i>Didymella</i> | 1.44 | | | | <i>Gemmatimonas</i> | 2.02 | | |
| | | DC | DC | | | | <i>Fusarium</i> | 41.06 | <i>Candidatus Udaeobacter</i> | 1.86 |
| | | | | | | | <i>Coprinellus</i> | 25.66 | <i>Pseudolabrys</i> | 1.84 |
| | | | | | | | <i>Trichoderma</i> | 4.66 | <i>Candidatus Solibacter</i> | 1.67 |
| <i>Mortierella</i> | 4.58 | | | <i>Propioniciclava</i> | 1.49 | | | | | |
| <i>Gibberella</i> | 3.34 | | | <i>Georgenia</i> | 1.44 | | | | | |
| unidentified <i>Helotiales</i> sp. | 3.27 | | | <i>Bellilinea</i> | 1.19 | | | | | |
| <i>Mariannaea</i> | 2.91 | | | <i>Brooklawnia</i> | 1.07 | | | | | |
| unidentified <i>Cheatothyriales</i> sp. | 2.49 | | | <i>Ellin6067</i> | 1.01 | | | | | |
| <i>Trichocladium</i> | 2.22 | | | <i>Syntrophomonas</i> | 0.99 | | | | | |
| unidentified <i>GS11</i> sp. | 1.67 | | | <i>Methanobacterium</i> | 0.92 | | | | | |
| <i>Cylindrocarpon</i> | 1.50 | | | | | | | | | |
| <i>Halenospora</i> | 1.31 | | | | | | | | | |

4 讨论

土壤的类型、肥力及植被的类型、数量是土壤生物多样性变化的主要推进力量^[17-18]。研究发现,不同产量下天麻根际土壤微生物群落结构多样性和丰富度无明显差异。分析认为,这可能跟试验地位于林下,天麻种植方式都采用仿野生栽培,种植

期间未曾除草、施肥,且采样范围在300 m²内,两组样品的种植模式、地上周围植被类型、土壤类型等相差不大有关。

不同产量下天麻根际土壤微生物群落组成不同。土壤微生物能够维系多细胞真核生物与土壤之间的平衡稳态,平衡一旦被打破,植物生长就会

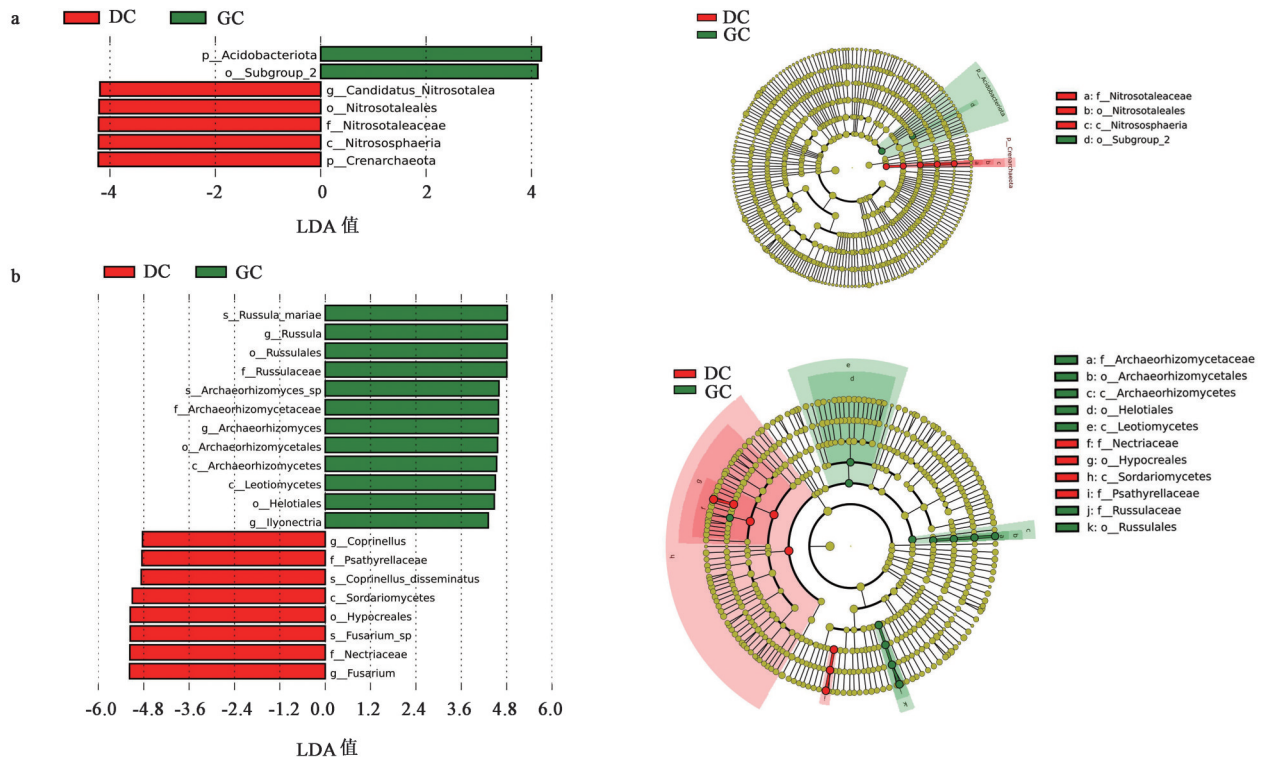


图4 2组土壤样品真菌和细菌的LDA值分布柱状图和进化分支

Fig. 4 LDA value distribution histogram and evolutionary branching diagram of bacteria and fungi in soil samples of two groups

受到影响^[19]。研究发现,在属水平上,高产和低产天麻根际土壤微生物群落组成差别很大,多种微生物分别在高产天麻根际土壤和低产天麻根际土壤大量聚集;其中,乳酸杆菌属 *Lactobacillus* 可促进有机物质的分解、促进植物与真菌、细菌的相互作用^[20],慢生根瘤菌属 *Bradyrhizobium* 作为固氮菌,可改善植物的根际环境,促进植物生长^[21],假单胞菌属 *Pseudomonas* 是生防微生物,为有益菌,是健康天麻的优势菌,能有效地防治病害的发生、促进植物的生长,对根腐病、枯萎病、幼苗猝倒病有较强的防治效果^[22-25]。这些有益微生物在高产天麻根际土壤中大量集聚,可能是造成天麻产量变化的关键微生物;镰刀菌属 *Fusarium* 大多为植物病原菌,可引起天麻病害^[13,26],木霉属 *Trichoderma* 作为根际促生真菌,可促进天麻生长,但2种微生物均在低产土壤根际土壤中聚集。由此推测,天麻根际土壤中有益菌的促生作用很可能被有害菌抑制,从而导致天麻减产,值得后续深入研究其作用机制。

不同产量下天麻根际土壤微生物存在差异物种。研究发现,高产天麻根际土壤和低产天麻根际土壤微生物有6个属和种水平上的差异物种,分别为氨氧化古菌属 *Nitrosotalea*、土赤壳属 *Ilyonectria*、绒紫红菇 *Russula mariae*、古根菌属

Archaeorhizomyces、簇生鬼伞 *Coprinellus disseminatus*、镰刀菌属 *Fusarium*,这些差异物种在天麻根际土壤中扮演着重要角色,可能引起天麻产量变化。值得注意的是,*Ilyonectria* 作为天麻有害菌,作为差异物种偏向集中于高产天麻根际土壤中,推测在天麻根际土壤中,存在其他调控天麻生长的微生物,可以减轻病原菌对天麻的侵害,但是否存在要进一步深入研究才可知,因此深入研究天麻-蜜环菌-微生物作用机制是很有必要的。

植物与根际微生物组互相影响,根际微生物群落结构及其代谢产物对于调控植物生长、改善植物营养和抵御病虫害等胁迫都具有重要的作用。高产和低产天麻根际土壤中存在多种微生物聚集,有乳酸杆菌属 *Lactobacillus*、木霉属 *Trichoderma*、慢生根瘤菌属 *Bradyrhizobium* 等有益菌,也有土赤壳属 *Ilyonectria*、镰刀菌属 *Fusarium*、*Helotiales* 等病原菌,但并不是所有有益菌都聚集在高产天麻根际土壤中,有害菌都聚集在低产天麻根际土壤中,说明天麻产量受多种微生物调控。但这些微生物是作用于蜜环菌间接影响天麻生长还是直接作用于天麻目前尚未可知。因此深入研究细菌、真菌等微生物与天麻的互作机制,对阐述天麻-蜜环菌-土壤微生物三者之间的关系有着非常重要的作用,有助于揭示土壤

微生物与天麻质量、产量的关系等问题。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:59.
- [2] 徐锦堂,牟春. 天麻原球茎生长发育与紫萁小菇及蜜环菌的关系[J]. 植物学报:英文版,1990(1):26-31.
- [3] 彭政,郭秀芝,徐扬,等. 药用植物与根际微生物互作研究进展与展望[J]. 中国中药杂志,2020,45(9):2023-2030.
- [4] 祝蕾,严辉,刘培,等. 药用植物根际微生物对其品质形成的影响及其作用机制的研究进展[J]. 中草药,2021,52(13):4064-4073.
- [5] MAÑERO F J, ALGAR E, MARTÍN GÓMEZ M S, et al. Elicitation of secondary metabolism in *Hypericum perforatum* by rhizosphere bacteria and derived elicitors in seedlings and shoot cultures [J]. Pharm Biol,2012,50(10):1201-1209.
- [6] 张海珠,李杨,张彦如,等. 菌根真菌处理下滇重楼对营养元素的吸收和积累[J]. 环境化学,2019,38(3):615-625.
- [7] 赵麒鸣,吴鹏,刘鸿高,等. 蜜环菌与天麻的共生关系研究进展[J]. 云南农业科技,2022(2):56-58.
- [8] 王秋颖,郭顺星,关凤斌. 不同来源蜜环菌对天麻产量影响的研究[J]. 中草药,2001,32(9):839-841.
- [9] 陈明义,李福后,边银丙. 蜜环菌不同菌株对天麻产量的影响[J]. 食用菌学报,2004,11(1):46-48.
- [10] 李晓东,雷萍,付玉平,等. 红杆天麻共生蜜环菌筛选初探[J]. 陕西农业科学,2022,68(5):16-19,99.
- [11] LIU T, HUA Z, HAN P, et al. Mycorrhizosphere Bacteria, *Rahnella* sp. HPDA25, promotes the growth of *Armillaria gallica* and its parasitic host *Gastrodia elata* [J]. Front Microbiol, 2022, 13: 842893.
- [12] 柏秋月,邓百万,解修超,等. 天麻病害发生与其真菌群落结构变化关系研究[J]. 河南农业科学,2021,50(1):92-100.
- [13] 唐鑫,张进强,滕力庆,等. 天麻褐腐病与土壤微生物菌群结构的关联分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(24):153-160.
- [14] 张进强,唐鑫,郭兰萍,等. 天麻连作障碍与土赤壳属真菌的关联分析及改善措施[J]. 中国中药杂志,2022,47(9):2296-2303.
- [15] 谭云,申爱荣,吴振明,等. 不同菌材栽培天麻地土壤微生物和理化性状初析[J]. 湖南林业科技,2018,45(5):12-20.
- [16] 徐娇,黄萱,周涛,等. 天麻种植对土壤微生物群落结构的影响分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(19):10-16.
- [17] CHIARINI L B A, DALMASTRI C, CHIONI S, et al. Influence of plant development, cultivar and soil type on microbial colonization of maize root [J]. Applied Soil Ecology,1998,8:11-18.
- [18] 沈雪梅. 土壤微生物多样性的主要影响因子[J]. 安徽农学通报:上半月刊,2009,15(11):83-85,194.
- [19] DURÁN P, THIERGART T, GARRIDO-OTER R, et al. Microbial interkingdom interactions in roots promote *Arabidopsis* survival [J]. Cell,2018,175(4):973-983.
- [20] XIA L, SZLAVECZ K, SWAN C M. Inter- and intra-specific interactions of *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister, 1843) and *Octolasion lacteum* (Örley, 1881) (Lumbricidae) and the implication for C cycling [J]. Soil Biol Biochem,2011,43(7):1584-1590.
- [21] MEENA R S, VIJAYAKUMAR V, AL E. Response and interaction of *Bradyrhizobium japonicum* and arbuscular mycorrhizal fungi in the soybean rhizosphere [J]. Plant Growth Regulation, 2017, 84(2):207-223.
- [22] 李兴龙,李彦忠. 土传病害生物防治研究进展[J]. 草业学报,2015,24(3):204-212.
- [23] NAIK P R, RAMAN G, NARAYANAN K B, et al. Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonads isolated from rhizospheric soil [J]. BMC Microbiol, 2008, 8:230.
- [24] TRAN H, KRUIJT M, RAAIJMAKERS J M. Diversity and activity of biosurfactant-producing *Pseudomonas* in the rhizosphere of black pepper in vietnam [J]. J Appl Microbiol,2008,104(3):839-851.
- [25] MALANDRAKI I, TJAMOS S E, AL E. Thermal inactivation of compost suppressiveness implicates possible biological factors in disease management [J]. Biological Control,2008,44(2):180-187.
- [26] 高晓敏,王璐钢,马立国,等. 尖孢镰刀菌致病机理和化感作用研究进展[J]. 微生物学通报,2014,41(10):2143-2148.

[责任编辑 顾雪竹]