

天麻种植对土壤微生物群落结构的影响分析

徐娇¹, 黄莹¹, 周涛^{1*}, 欧小宏¹, 王艳红¹, 江维克¹, 袁媛², 刘大会³, 王晓⁴, 张光文⁵

(1. 贵州中医药大学, 贵阳 550025; 2. 中国中医科学院中药资源中心, 北京 100700;

3. 湖北中医药大学, 武汉 430065; 4. 山东省分析测试中心, 济南 250014;

5. 贵州乌蒙腾菌业有限公司, 贵州大方 551600)

[摘要] 目的:分析不同生境种植天麻前后土壤微生物的群落结构变化,探讨土壤微生物对种植天麻的响应程度。方法:对贵州大方和安徽金寨未种植天麻土壤(CK1和CK2),采收前天麻块茎周围土壤(GE1和GE2)和蜜环菌菌索周围土壤(AGE1和AGE2)进行ITS和16S rDNA测序分析。结果:PCA主成分分析说明与对照土壤相比,种植天麻后土壤微生物发生较大改变。测序结果分析发现种植天麻使得土壤中真菌和细菌OTUs数目均有一定的增加。与对照土壤相比,贵州大方种植天麻后的土壤真菌和细菌群落的多样性及丰度均呈增加的趋势;安徽金寨种植天麻后的土壤真菌的多样性及丰度变化不大,土壤细菌群落丰度增加。二者土壤中土壳属 *Ilyonectria*, 硝化螺菌属 *Nitrospira* 的相对丰度显著升高,红菇属 *Russula* 的相对丰度显著降低;贵州大方土壤中镰刀菌属 *Fusarium*, 被孢霉属 *Mortierella* 的相对丰度显著增加。结论:种植天麻后土壤微生物平衡被打破,并且土壳属 *Ilyonectria*, 镰刀菌属 *Fusarium* 等病原微生物丰度增加,推测与天麻病虫害有一定的相关性。

[关键词] 天麻; 蜜环菌; 土壤微生物; 多样性; 丰度

[中图分类号] R284.2;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)19-0010-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20202016

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200723.0858.002.html>

[网络出版日期] 2020-7-23 09:42

Effect of *Gastrodia elata* Planting on Soil Microbial Community Structure

XU Jiao¹, HUANG Xuan¹, ZHOU Tao^{1*}, OU Xiao-hong¹, WANG Yan-hong¹, JIANG Wei-ke¹,

YUAN Yuan², LIU Da-hui³, WANG Xiao⁴, ZHANG Guang-wen⁵

(1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China;

2. National Resource Center for Chinese Meteria Medica, Chinese Academy of Chinese Medical Sciences,

Beijing 100700, China; 3. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;

4. Shandong Analysis and Test Center, Ji'nan 250014, China;

5. Guizhou Wumengteng Fungus Industry Limited Company, Dafang 551600, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the changes of soil microbial community structure before and after planting *Gastrodia elata* in different producing areas, and to investigate the response of soil microorganisms to the planting of *G. elata*. **Method:** ITS and 16S rDNA high-throughput sequencing technologies were used to detect fungal and bacterial community compositions in the soil, including the soil without planting *G. elata*(CK1, CK2), the soil around *G. elata*(GE1, GE2) before harvesting, and the soil around the rhizomorph of *Armillaria* (AGE1, AGE2) in Dafang, Guizhou and Jinzhai, Anhui respectively. **Result:** Principal component analysis

[收稿日期] 20200219(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81960694);中央本级重大增减支项目(2060302);贵州省科技平台及人才计划项目(黔科合平台人才[2019]5611号);贵州省高层次创新型人才项目(黔科合平台人才[2018]5638);贵州省教育厅创新群体重大研究项目(黔教合KY字[2018]022);现代农业产业技术体系建设专项(CARS-21);贵州中医药大学博士启动基金项目([2019]32)

[第一作者] 徐娇, 讲师, 从事分子生药学研究, E-mail: xujiao2008mzk@163.com

[通信作者] *周涛, 教授, 从事中药资源学研究, E-mail: taozhou88@163.com

(PCA) showed that the soil microorganisms changed significantly after *G. elata* planting as compared with the control soil. The sequencing results showed that the planting of *G. elata* increased the OTUs number of fungi and bacteria. As compared with the control soil, the diversity and abundance of fungal and bacterial communities showed an increase trend after the cultivation of *G. elata* in soil of Dafang, Guizhou, such changes of fungal communities were not significant, but the abundance of soil bacteria communities increased in Jinzhai, Anhui as compared with the control soil. The abundance of genera *Ilyonectria* and *Nitrospira* increased, while genera *Russula* decreased significantly both in the soil of Guizhou and Anhui. Furthermore, the abundance of *Fusarium* and *Mortierella* increased significantly in the soil of Dafang, Guizhou. **Conclusion:** The soil microorganisms were out of balance after planting of *G. elata*, and the abundance of pathogenic microorganisms such as *Ilyonectria* and *Fusarium* increased, which may be related to the plant diseases and insect pests of *G. elata*.

[Key words] *Gastrodia elata*; *Armillaria*; soil microbial; diversity; abundance

天麻 *Gastrodia elata* 为兰科天麻属草本植物,是我国传统名贵中药材,以块茎入药,具有息风止痉、平抑肝阳、祛风通络等功效。目前,天麻主要来源于人工种植,随着需求的增加,天麻的种植面积不断扩大。

目前天麻的种植方式多样,总结现有的种植方式主要有仿野生栽培和设施栽培。仿野生栽培主要采取林下仿野生种植方式,模拟野生天麻原始生境^[1-3];设施栽培有简易的大田栽培,箱式栽培,代料袋式栽培等方式,这些栽培方式中人工干预较多,有利于小气候调控,便于管理,其中,大田栽培有遮阳和灌溉设施,可降温保湿,箱式栽培和代料袋式栽培可在室内栽培,人为控温控湿^[4-5],使天麻和蜜环菌处于最佳的生长状态。贵州大方县是天麻原产地之一,以林下仿野生种植方式为主,其栽培的环境与天麻生长的原始生境相似^[1-2],主要种植在海拔1 700 m及以上林地,年均气温为11.8℃,年降水量1 150 mm,夏季凉爽,冬季没有严寒,无霜期较长,是天麻生长比较适宜的环境^[6]。安徽金寨位于大别山区,天麻是其主产中药材之一,平均海拔350 m,年均气温16.1℃,年均降雨量1 389.6 mm,7月至9月是高温季节,天麻种植以大田栽培为主,常采用大棚或遮阳网来降低土壤温度,并结合大田灌溉减少干旱的影响^[7-8]。天麻是异养植物,其生长依赖于蜜环菌提供营养,天麻、蜜环菌、土壤三者存在相互作用的关系^[9-10],植物的种植与土壤微生物生态平衡密切相关。不同种植模式下天麻的种植都有一定程度的连作障碍,其原因与微生物群落结构变化密切相关。研究报道不同树种菌材栽培天麻后土壤微生物组成及理化性质性状差异较大^[11],而且野生和栽培天麻生长地土壤微生物组成也有较大差异^[12],但缺乏深入分析研究天麻种植前后土壤微生物

群落结构的变化,解析天麻种植对土壤微生物的影响。因此,深入研究仿野生种植和人工大田栽培不同种植模式下天麻种植前后土壤微生物的群落结构的变化对天麻的种植和生产具有重要的作用。本实验针对贵州大方和安徽金寨不同天麻种植模式下种植天麻前后的土壤展开研究,解析天麻种植前后土壤微生物群落结构的变化。

1 材料

本研究采样地点分别位于贵州省毕节市百里杜鹃管理区普底乡红丰村,贵州乌蒙藤菌业有限公司天麻种植基地(105°55'16"E,27°13'47"N),海拔1 781 m,褐壤土;安徽省金寨县双河镇皮坊村,大别山天麻种植区(115°34'19"E,31°35'41"N),海拔350 m,砂质土。

2018年11月采集土壤样品。贵州土壤样品分别为空白土样(CK1),种植箭麻块茎周围土样(GE1)及种植箭麻时期蜜环菌周围土样(AGE1)。安徽土壤样品分别为空白土样(CK2),种植箭麻块茎周围土样(GE2)及种植箭麻时期蜜环菌周围土样(AGE2)。空白土壤先铲去地表落叶及腐殖质层0~5 cm,在深度约5 cm处挖取土壤约5 g,混匀,去除杂物,装入无菌自封袋中;GE取样为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;AGE取样为天麻采收前蜜环菌菌索周边厚度约5 mm的土壤。均随机采集4个生物学重复,每个重复6份土壤,过2 mm筛,保存于-80℃,共采集16份土壤样品,用于提取土壤真菌和细菌DNA。

微生物总DNA提取采用E.Z.N.A. Soil DNA Kit试剂盒(美国Omega Bio-tek,批号D5625-01);微生物扩增子测序在上海美吉生物医药科技有限公司开展。

2 方法

2.1 土壤微生物总DNA的提取和测序 取土壤提取微生物总DNA 0.5 g,提取方法依据E.Z.N.A. Soil DNA Kit试剂盒说明书操作流程。提取DNA分别进行细菌16S rDNA和真菌ITS扩增。细菌16S rRNA扩增引物采用338F(5'-ACTCCTACGGGAG GCAGCAG-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTW TCTAAT-3'),真菌ITS扩增引物为ITS1F(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和ITS2R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')。将真菌和细菌的扩增子构建PE2*300的文库,利用Illumina公司的Miseq PE300平台进行测序。原始测序序列使用Trimmomatic软件进行质控,过滤reads尾部质量值20以下的碱基,使用FLASH(1.2.11)进行拼接。

2.2 测序数据的注释 根据聚类分析序列之间的相似性分为多个操作单元(Operational taxonomic unit, OTU),序列相似性域值设为97%,将物种OTU进行聚类和生物信息统计分析。利用RDP classifier(<http://rdp.cme.msu.edu>)对每条序列进行物种分类注释。细菌16S rRNA数据库为Silva(Release128 <http://www.arb-silva.de>);真菌ITS数据库为Unite(Release 7.0<http://unite.ut.ee/index.php>)的真菌数据库。

2.3 分析方法

2.3.1 Alpha多样性分析和Beta多样性分析 通过Chao指数反映微生物群落丰度,ACE指数用来估计群落中OTU数目,都是由Chao提出,是生态学中估计物种总数的常用指数,Chao指数和Ace指数是对菌群丰度进行的评估,值越大,说明菌群越丰富。计算公式: $S_{chao1} = S_{obs} + \frac{n1(n1 - 1)}{2(n2 + 1)}$,其中 S_{chao1} 为估计OTU数, S_{obs} 为实际观测到OTU数, $n1$ 为只含有1条序列的OTU数目, $n2$ 为只含有2条序列的数目。

Shannon指数用来定量描述一个区域的生物多样性,是菌群微生物多样性评价指标之一,Shannon值越大,说明群落多样性越高。

计算公式: $Shannon = -\sum_{i=1}^{Sobs} \frac{ni}{N} \ln \frac{ni}{N}$,其中, $Sobs$ 实际观测到的OTU数目, ni 第*i*个OTU所含的序列数; N 为所有的序列数。

Beta多样性分析包括PCA(Principal Component Analysis)分析。PCA运用方差分解,将多组数据的差异反映在二维坐标图上,坐标轴取能够最大反映样品间差异的两个特征值。如样本物

种组成越相似,反映在PCA图中的距离越近。通过*t*检测的方法对数据进行显著性分析。

2.3.2 物种组成及差异分析 通过韦恩图统计2个地区3组样本中共有和特有的OTU数目,直观的表现不同天麻产区样本的OTU组成的异同,并在属水平统计各样本中真菌和细菌丰度数据。

3 结果

3.1 ITS和16S扩增子测序质量分析 对6组土壤样品扩增子测序,共获得的有效序列分别为真菌1 546 379条,各样品序列数平均为64 432条,每条序列平均长度为264 bp;细菌1 180 308条,各样品序列数平均为49 180条,各序列平均长度为435 bp,见表1。测序结果符合要求,可用于后续分析。

表1 6组土壤样品测序数据信息统计

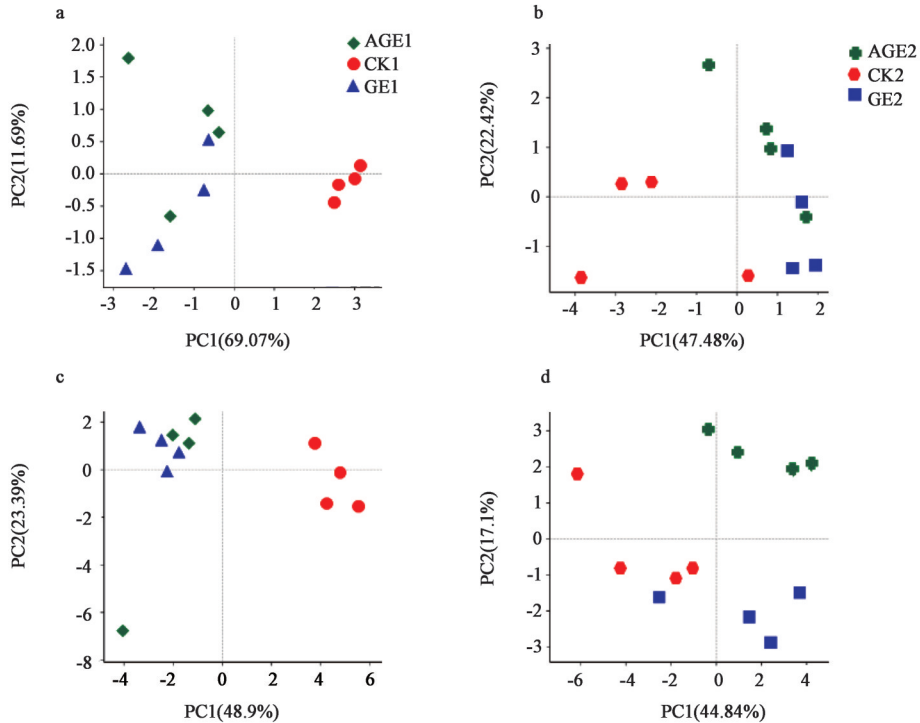
Table 1 Information of sequencing data in soil samples of six groups

样品信息	ITS			16S		
	序列数 /条	碱基数 /bp	长度 /bp	序列数 /条	碱基数 /bp	长度 /bp
CK1_1	62 089	16 107 529	259	38 394	16 580 430	432
CK1_2	56 524	14 687 601	260	35 811	15 469 042	432
CK1_3	61 316	15 814 335	258	42 466	18 348 867	432
CK1_4	60 474	15 821 373	262	30 673	13 253 056	432
GE1_1	60 867	15 914 580	261	31 892	13 898 981	436
GE1_2	60 163	15 889 557	264	34 688	15 097 024	435
GE1_3	49 543	12 511 846	253	30 414	13 256 674	436
GE1_4	54 109	14 290 384	264	38 101	16 595 379	436
AGE1_1	60 663	15 850 999	261	40 803	17 747 471	435
AGE1_2	58 574	15 206 693	260	32 013	13 985 431	437
AGE1_3	55 998	15 137 521	270	33 005	14 366 893	435
AGE1_4	58 624	15 636 363	267	32 114	13 943 332	434
CK2_1	72 847	19 930 250	274	62 136	27 062 611	436
CK2_2	70 826	18 796 630	265	61 783	26 929 972	436
CK2_3	63 768	17 287 623	271	62 715	27 247 920	434
CK2_4	73 620	19 347 014	263	62 747	27 326 713	436
GA2_1	72 340	19 413 810	268	60 700	26 532 964	437
GA2_2	62 696	16 915 945	270	61 060	26 622 470	436
GA2_3	69 218	18 553 723	268	65 959	28 734 850	436
GA2_4	72 893	19 398 793	266	70 297	30 600 319	435
AGE2_1	71 337	18 530 943	260	60 904	26 464 384	435
AGE2_2	74 528	19 456 046	261	60 179	26 214 747	436
AGE2_3	74 045	19 983 908	270	65 686	28 630 704	436
AGE2_4	69 317	18 173 406	262	65 768	28 660 510	436

3.2 Beta多样性分析 PCA主成分分析结果显示,

贵州大方和安徽金寨的天麻种植地,对照土壤(CK)与天麻和蜜环菌索周围的土壤(GE, AGE)物种组成差异较大,见图1。贵州大方天麻基地CK1与GE1, AGE1的真菌和细菌微生物在PC1上差异较大,而GE1与AGE1在PC1和PC2中均比较相近,其真菌和细菌组成比较相似(图1a, c)。安徽金寨天麻基地CK2与GE2, AGE2的真菌和细菌微生物在

PC1上也存在较大的差异,GE2与AGE2在PC1上距离较近,在PC2上的距离较远,特别是在细菌中的距离差异较大(图1b, d)。在PCA主成分分析中,两地种植天麻前后土壤真菌和细菌多样性均存在差异,贵州大方的天麻和蜜环菌周围土壤真菌和细菌组成较为相似,而安徽金寨的天麻和蜜环菌周围土壤细菌组成分布距离较远,二者差异较大。



a, c. 贵州大方; b, d. 安徽金寨(图2同)

图1 不同土壤样品中真菌(a, b)和细菌(c, d)PCA分析

Fig. 1 PCA analysis of fungi and bacteria in soil samples

3.3 土壤微生物群落结构多样性比较分析 与CK1相比, GE1和AGE1中真菌的Shannon指数, Ace指数, Chao指数均呈极显著增加,说明与CK1相比, GE1和AGE1土壤中真菌群落结构的多样性

和丰富度增加;与CK2相比, GE2的中Shannon指数显著降低, GE2和AGE2的其他指数均无显著性差异,说明与CK2相比, GE1和AGE1土壤中真菌群落结构的多样性和丰富度变化不大。见表2。

表2 不同土壤样品真菌丰度和多样性($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Abundance and diversity comparative analysis of fungi in soil samples($\bar{x} \pm s$)

评估指数	CK1	GE1	AGE1	CK2	GE2	AGE2
Shannon指数	3.85±0.05	4.74±0.033 ²⁾	4.84±0.18 ²⁾	4.56±0.071	3.89±0.39 ⁴⁾	4.22±0.16
Ace指数	375.88±21.14	748.38±13.50 ²⁾	779.37±18.27 ²⁾	632.03±24.85	677.10±28.59	671.56±26.44
Chao指数	381.90±18.38	762.16±19.81 ²⁾	795.08±17.90 ²⁾	650.57±23.23	686.56±35.53	694.74±42.49

注:备注:与CK1相比¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01; CK2相比³⁾P<0.05, ⁴⁾P<0.01(表3~5同)。

与CK1相比, GE1和AGE1中细菌的Shannon指数, Ace指数, Chao指数均呈极显著增加,说明与CK1相比, GE1和AGE1土壤中细菌群落结构的多样性和丰富度显著增加;与CK2相比, GE2和AGE2

中细菌Ace指数显著升高; AGE2中细菌Chao指数呈显著升高,说明与CK2相比, GE2和AGE2土壤中细菌群落丰富度增加。结果显示,贵州大方种植天麻后,土壤真菌和细菌群落的多样性及丰度均呈增

加的趋势;安徽金寨种植天麻后的土壤细菌群落多样性变化不大,但细菌群落丰度增加。见表3。

表3 不同土壤样品细菌丰度和多样性($\bar{x} \pm s$)

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

CK1	GE1	AGE1	CK2	GE2	AGE2
5.36±0.07	6.08±0.07 ²⁾	5.98±0.09 ²⁾	5.95±0.14	6.06±0.078	5.99±0.07
734.02±10.94	1 256.20±15.27 ²⁾	1 266.60±29.32 ²⁾	1 320.20±69.06	1 359.30±27.99 ³⁾	1 369.70±5.68 ⁴⁾
761.55±24.48	1 279.20±18.08 ²⁾	1 294.90±22.23 ²⁾	1 331.60±74.35	1 364.90±29.93	1 377.20±12.22 ³⁾

3.4 土壤微生物物种组成分析 韦恩图见图2,在6组样本土壤真菌中,贵州大方土壤中有1 041个真菌 OTUs(图2a),CK1,GE1,AGE1共有的真菌 OTUs有269个;安徽金寨土壤中有904个真菌 OTUs(图2b),CK2,GE2,AGE2共有的真菌 OTUs有593个。在6组样本土壤细菌中,贵州大方土壤中有1562个细菌 OTUs(图2c),CK1,GE1,AGE1共有的细菌 OTUs有640个;安徽金寨土壤中有1 542个细菌 OTUs(图2d),CK2,GE2,AGE2共有的真菌 OTUs有1 306个。不论是贵州大方还是安徽金寨,对照(CK)中的 OTUs 数目均低于天麻和蜜环菌土壤样品(GE和AGE)中的 OTUs 数目,见表4。结果说明,种植天麻后,天麻和蜜环菌周围土壤中 OTUs 数目增加,但贵州大方种植天麻后真菌和细菌增加的数目多于安徽金寨。

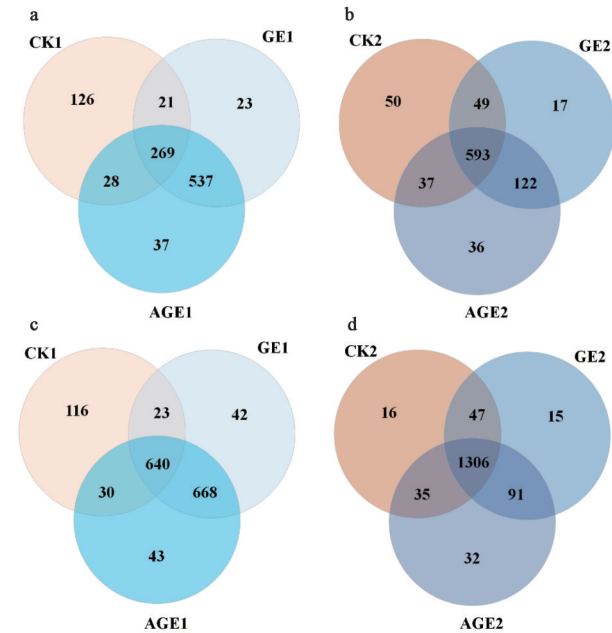


图2 不同土壤样品中真菌(a,b)和细菌(c,d)OTU分析
Fig. 2 Analysis of OTU number of fungi and bacteria in soil samples

3.5 土壤微生物群落结构组成分析 种植天麻后,贵州大方和安徽金寨的土壤微生物变化有相似和

表4 贵州大方和安徽金寨土壤样品中真菌 ITS 和细菌 16S OTUs 数目统计

Table 4 Statistics on number of ITS and 16S OTUs from soil of Guizhiu and Anhui

样品	ITS 中 OTU 总数	16S 中 OTU 总数
CK1	444	809
GE1	850	1 373
AGE1	871	1 381
CK2	729	1 404
GE2	781	1 459
AGE2	788	1 464

不同之处。相同的趋势是 *Armillaria*, *Ilyonectria*, *Nitrospira* 的相对丰度显著升高, *Russula* 相对丰度显著降低;其他真菌或细菌,如子囊菌 *Fusarium*, 变形菌 *Sphingomonas* 等的相对丰度不变或者变化趋势相反。说明贵州大方和安徽金寨种植天麻后的土壤微生物的丰度变化有明显的差异。见表5。

4 讨论

贵州大方土壤真菌和细菌的多样性和丰度变化均较显著,而安徽金寨种植天麻后土壤中仅有细菌的丰度变化有显著差异。前者种植天麻后尖孢镰刀菌 *Fusarium* 等真菌的丰度显著增加, *Fusarium* 是一种致病菌,可造成植物的根腐、茎腐等多种病害^[13-15];而后者土壤真菌的丰度变化不大。分析认为,两地区的土壤类型不同:贵州大方天麻种植以褐壤土为主,而安徽金寨的天麻种植以砂质土为主,透气性好,有利于天麻和蜜环菌的生长^[16],土壤透气性对于维持土壤微生物群落结构具有重要的作用,见表6。贵州大方是高海拔地区,安徽金寨海拔较低,温湿度等气候对土壤微生物的群落结构及丰度也有较大的影响^[17]。贵州大方以林下仿野生种植为主,采用穴式种植,人工干预较少;安徽金寨以大田栽培为主,采用厢式种植,夏季人工搭建荫棚降温,灌溉保湿,人工干预较多。已有研究表明,灌溉会减少土壤真菌的数量,增加部分细菌的数量^[18]。后者较多的人工干预可能扰乱天麻种植土

表5 样本中真菌和细菌群落丰度统计($\bar{x} \pm s, n=4$)

Table 5 Statistics community abundance of fungal and bacterial in soil samples($\bar{x} \pm s, n=4$)

菌属	CK1	GE1	AGE1	CK2	GE2	AGE2
unclassified_p__Ascomycota	6.57±0.67	2.43±0.39 ²⁾	3.74±0.62 ²⁾	4.67±0.25	33.04±8.73 ⁴⁾	20.20±2.36 ⁴⁾
Mortierella	13.90±0.62	25.21±4.87 ²⁾	18.02±4.20 ¹⁾	3.75±0.51	4.41±0.51	5.15±1.09
Cryptococcus	12.20±1.37	6.89±1.15 ¹⁾	5.64±1.27 ²⁾	9.09±1.55	2.88±0.59 ⁴⁾	8.10±0.82
Penicillium	1.73±1.06	0.61±0.15	0.77±0.29	7.78±0.95	9.53±2.02 ⁴⁾	5.59±0.38
Russula	8.29±0.48	2.78±1.06 ¹⁾	2.87±1.46 ²⁾	5.47±0.99	0.04±0.01 ⁴⁾	0.17±0.07 ⁴⁾
Eukary_g__Trichoderma	1.24±0.15	2.13±0.28	1.75±0.26	1.63±0.26	1.65±0.21	3.13±0.46 ⁴⁾
Fusarium	0.02±0.01	0.31±0.18 ²⁾	0.14±0.12 ¹⁾	1.61±0.33	0.83±0.21 ⁴⁾	1.38±0.29
Ilyonectria	0.03±0.01	1.41±1.31 ²⁾	0.86±0.20 ²⁾	0.48±0.07	0.64±0.09 ⁴⁾	0.61±0.19 ³⁾
Geminibasidium	1.08±0.11	0.30±0.04 ¹⁾	0.27±0.12 ¹⁾	0.49±0.04	0.25±0.09	0.27±0.07
Armillaria	0	0.06±0.07 ¹⁾	0.12±0.12 ¹⁾	0	0.10±0.14 ³⁾	0.42±0.31 ³⁾
Acidothermus	12.47±1.92	5.22±0.43 ¹⁾	5.25±1.81 ²⁾	2.66±0.37	3.51±0.44	4.75±0.36
norank_o__Gaiellales	0.89±0.15	3.30±0.32 ²⁾	2.89±0.41 ¹⁾	6.36±0.59	5.81±0.63	5.17±0.65
norank_f__Rhodobiaceae	0.04±0.02	1.97±0.32 ²⁾	2.17±0.55 ²⁾	0.80±0.15	0.61±0.20 ⁴⁾	0.65±0.07
Sphingomonas	0.13±0.02	0.52±0.10 ²⁾	0.41±0.05 ¹⁾	2.31±0.24	1.53±0.19 ⁴⁾	0.63±0.09 ⁴⁾
Rhizomicrobium	0.69±0.08	1.09±0.16	1.15±0.32	0.50±0.10	0.70±0.05 ⁴⁾	1.36±0.27 ⁴⁾
Acidibacter	1.39±0.29	0.88±0.06	0.81±0.20 ¹⁾	0.50±0.05	0.76±0.06 ³⁾	1.13±0.08 ⁴⁾
Pedomicrobium	0.05±0.01	1.13±0.27 ²⁾	1.01±0.24 ²⁾	1.20±0.23	0.46±0.06	0.34±0.08 ⁴⁾
norank_o__JG30-KF-AS9	1.24±0.21	0.24±0.09 ²⁾	0.59±0.38 ²⁾	0.07±0.03	0.16±0.07 ³⁾	0.18±0.04 ³⁾
Gemmatimonas	0	0.45±0.14 ²⁾	0.44±0.04 ²⁾	0.25±0.05	0.25±0.02	0.19±0.02
norank_f__Ktedonobacteraceae	0.97±0.22	0.02±0.01 ¹⁾	0.02±0.01 ²⁾	0.02±0.01	0.07±0.04 ⁴⁾	0.07±0.01 ⁴⁾
Nitrospira	0	2.17±0.38 ²⁾	1.79±0.19 ²⁾	2.00±0.13	3.36±0.27 ⁴⁾	3.02±0.52 ³⁾

表6 贵州大方和安徽金寨天麻种植异同点

Table 6 Similarities and differences of *Gastrodia elata* cultivation in Guizhou and Anhui

性状	相似点		不同点	
	贵州大方&安徽金寨	贵州大方	安徽金寨	
天麻种植方式	-	仿野生种植为主	大田栽培为主	
气候	-	年均气温 11.8 °C, 年降雨量 1 150 mm, 夏季凉爽, 冬季没有严寒, 无霜期较长	年均气温 16.1 °C, 年降雨量 1 389.6 mm, 7月至9月高温季节	
海拔	-	1 700 m 以上	300 m 左右	
天麻品种	-	乌天麻为主	红天麻或乌红杂交天麻	
土壤类型	-	褐壤土	砂质土	
种植模式	培养菌材, 年底-翌年2月种天麻	自然杂木林下, 穴式种植, 人工干预较少	厢式种植, 搭建荫棚降温, 灌溉保湿, 人工干预较多	
种植土壤微生物群落结构变化	细菌群落结构丰度显著增加	真菌和细菌多样性和丰度显著增加	真菌多样性和丰度没有显著差异, 细菌多样性无显著性差异	
种植前后相对丰度变化的真菌	种植天麻后土壤中 <i>Armillaria</i> , <i>Ilyonectria</i> 丰度显著增加, 蜜环菌周围 <i>Russula</i> 丰度显著降低	<i>Fusarium</i> , <i>Mortierella</i> 等真菌丰度显著升高	<i>unclassified_p__Ascomycota</i> 等真菌丰度显著增加, <i>Mortierella</i> 丰度升高, 但变化不显著	
种植前后相对丰度变化的细菌	硝化螺旋菌 <i>Nitrospira</i> 显著升高	<i>Sphingomonas</i> , <i>Gemmatimonas</i> , <i>Gaiellales</i> 等细菌丰度显著升高; JG30-KF-AS9, <i>Ktedonobacteraceae</i> 等细菌降低	JG30-KF-AS9, <i>Ktedonobacteraceae</i> , 等细菌丰度显著升高, <i>Sphingomonas</i> , 等细菌降低	

壤微生物群落的变化,使其土壤真菌和细菌的多样性及丰度变化弱于贵州大方,两地的选择种植的天麻品种不同,贵州大方种植以乌天麻为主,该品种类型主要适于高海拔地区,安徽金寨种植以红天麻为主,适宜低海拔生境;大方乌天麻病虫害较为严重,与土壤中 *Ilyonectria*, *Fusarium* 等病原菌增加有一定的关系,品种差异与生态气候相关,是否对土壤微生物有选择尚需进一步研究。

土壤微生物能够在植物根系中定殖,维系多细胞真核生物与土壤之间的平衡稳态,保证植物的健康生长。而这种平衡一旦被打破,植物的生长就会受到一定的影响^[19-20]。本文分析显示,虽然贵州大方和安徽金寨天麻种植方式不同,但种植前后土壤微生物的变化有许多相似之处。与对照土壤相比,两地区种植天麻后土壤中微生物的多样性有明显差异(图1),土壤中的真菌和细菌的数目高于对照(图2,表4),而且,土壤中蜜环菌属 *Armillaria*, 土赤壳属 *Ilyonectria*, 硝化螺菌属 *Nitrospira* 的丰度升高, *Ilyonectria* 大多为植物病原菌,可引起植物根腐病等^[13]。土壤微生物都有一定程度的失衡,且病原菌增加,是天麻不宜连作的原因之一。

天麻种植与土壤微生物的变化密切相关。种植天麻后,土壤中土赤壳属 *Ilyonectria*, 镰刀菌属 *Fusarium* 等病原微生物的丰度显著增加,推测与天麻病虫害有一定的关联。因此,深入研究种植天麻土壤微生物群落组成及丰度,对阐述天麻-蜜环菌-土壤三者之间的关系具有重要的作用,有助于揭示不同天麻种植方式中的连作障碍、病虫害等问题。

[参考文献]

[1] 张金霞,桂阳,杨通静,等. 贵州天麻生产现状与发展对策[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(12): 170-173.

[2] 王艳红,周涛,江维克,等. 天麻林下仿野生种植的生态模式探讨[J]. 中国现代中药, 2018, 20(10): 1195-1198.

[3] 王丽,马聪吉,吕德芳,等. 云南昭通天麻仿野生栽培技术的规范化管理[J]. 中国现代中药, 2017, 19(3): 408-414.

[4] 王立新,曾凡清,郑巧平. 浙西南地区天麻箱式栽培技术[J]. 食用菌, 2013, 21(6): 371-372.

[5] 张跃进,梁宗锁,周元,等. 不同栽培措施对天麻产量和产量结构的影响研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(3): 1134-1135.

[6] 罗玉友,罗值贤,康学良. 大方县天麻仿野生栽培气候分析[J]. 贵州气象, 2010, 34(6): 25-26.

[7] 杜方平. 金寨天麻生产现状与产业化发展思路[J]. 安徽科技, 2011(5): 24-25.

[8] 吴佳新,胡洪涛. 大别山低海拔地区乌红天麻杂交及栽培试验初报[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(19): 6206.

[9] MARTOS F, DULORMNE M, PAILLER T, et al. Independent recruitment of saprotrophic fungi as mycorrhizal partners by tropical achlorophyllous orchids[J]. New Phytologist, 2009, 184(3): 668-681.

[10] 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, 1990, 32(1): 26-31.

[11] 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.

[12] 田维毅,库尔马汉,王文佳,等. 天麻生长地土壤微生物群落的初步分析[J]. 中国微生态学杂志, 2009, 21(3): 220-222.

[13] MARTÍNEZ-DIZ M P, DÍAZ-LOSADA E, ARMENGOL J, et al. First Report of *Ilyonectria robusta* causing black foot disease of grapevine in Spain[J]. Plant Dis, 2018, doi: 10.1094/PDIS-05-18-0730-PDN.

[14] 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.

[15] KING B C, WAXMAN K D, NENNI N V, et al. Arsenal of plant cell wall degrading enzymes reflects host preference among plant pathogenic fungi[J]. Biotechnol Biofuels, 2012, doi: 10.1186/1754-6834-4-4.

[16] 王秋颖,郭顺星. 天麻生长特性及其在栽培中的应用[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(5): 353.

[17] 王甜甜,赵伟,王利明,等. 不同土地利用类型土壤微生物群落特征及其影响因素[J]. 环境污染与防治, 2019, 41(9): 1082.

[18] 张翠英,汪永进,徐德兰,等. 污灌对农田土壤微生物特性影响研究[J]. 生态环境学报, 2014, 23(3): 490-495.

[19] DURÁN P, THIERGART T, GARRIDO-OTER R, et al. Microbial interkingdom interactions in roots promote *Arabidopsis* survival[J]. Cell, 2018, doi: 10.1101/354167.

[20] NIU B, PAULSON J N, ZHENG X, et al. Simplified and representative bacterial community of maize roots[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114(12): E2450-E2459.

[责任编辑 顾雪竹]