

张翔宇,陈晓芳,柳敏,等.半夏轮作土壤丛枝菌根真菌多样性与环境因子相关性研究[J].江苏农业科学,2024,52(2):213-220.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.02.030

# 半夏轮作土壤丛枝菌根真菌多样性 与环境因子相关性研究

张翔宇<sup>1</sup>,陈晓芳<sup>2</sup>,柳敏<sup>1</sup>,成忠均<sup>1</sup>,李恒谦<sup>1</sup>,查钦<sup>1</sup>

(1.毕节市中药研究所,贵州毕节 551700;2.毕节医学高等专科学校,贵州毕节 551700)

**摘要:**解析不同轮作年限半夏土壤丛枝菌根真菌群落多样性与环境因子的相关性,为利用土壤环境因子调控 AMF 组成与丰度,提高半夏栽培效益提供参考。采用不同年限轮作半夏种植土壤为材料,通过高通量测序和生物信息学分析土壤丛枝菌根真菌群落多样性,并结合环境因子进行相关性分析。结果表明,AMF 的多样性和丰度均随着轮作时间的延长而增加,5 个样地的 15 个土壤样品中共注释到了 12 个科、14 个属、63 个种的 AMF 类群,球囊霉属 (*Glomus*)、近明球囊霉属 (*Claroideoglomus*) 为优势类群,占总序列数的 91.65%;在优势菌群中,球囊霉属的相对丰度与 ACP 活性极显著负相关,与 TK 含量显著负相关,近明囊霉属的相对丰度与 OM 含量显著负相关,与 TK 含量、CAT 活性、PPO 活性显著或极显著正相关;非优势菌群中,未分类的球囊霉门的相对丰度与 URE 活性极显著正相关,与 pH 值极显著负相关,多孢囊霉属 (*Diversispora*) 的相对丰度与 pH 值极显著正相关,与 AN 含量极显著负相关;不同菌群与土壤理化性质和酶活性的关联性差异较大,不同轮作年限土壤环境因子对半夏土壤中 AMF 群落组成和多样性影响较大。

**关键词:**半夏;轮作;丛枝根真菌;环境因子;多样性;相关性

**中图分类号:**S567.23<sup>+</sup>9.01;S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)02-0213-08

中药材半夏 [*Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.] 具

有燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结的功效<sup>[1]</sup>。半夏在我国为广泛分布种,自然居群不径相同。产地沿革考证其产区有陕西、山东、江苏、湖北等地<sup>[2]</sup>。如今我国半夏种植主产区为甘肃、河北、贵州、湖北等省,贵州赫章是主要半夏种植产区之一<sup>[3]</sup>,所产半夏个大粒圆、色白粉足<sup>[4-5]</sup>。

植物和土壤微生物之间的相互作用是连接生态系统的键<sup>[6]</sup>。土壤微生物量是土壤活性的重要标志<sup>[7]</sup>。植物为土壤微生物提供一定的营养,促进两者协同进化。土壤微生物可分解有机物并被植物吸收<sup>[6]</sup>。土壤微生物重要组成部分丛枝菌根

收稿日期:2023-02-08

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2015BAI05B03);贵州省人才基地项目(编号:RCJD2020-21);贵州省高层次创新型人才项目(编号:毕科人才合字[2021]05号);毕节市揭榜挂帅项目(编号:毕科合重大专项字[2021]3号);毕节市科技局联合基金项目(编号:毕科联合字 yz[2021]5号)。

作者简介:张翔宇(1986—),男,贵州道真人,硕士,副研究员,研究方向为药用植物资源工程。E-mail:304626335@qq.com。

通信作者:陈晓芳,硕士,副教授,研究方向为特色资源分子生物学,E-mail:672409415@qq.com;查钦,硕士,副研究员,研究方向为药用植物资源开发与利用,E-mail:914282286@qq.com。

[43] Zheng M H, Zhou Z H, Luo Y Q, et al. Global pattern and controls of biological nitrogen fixation under nutrient enrichment: a meta-analysis[J]. Global Change Biology, 2019, 25(9): 3018-3030.

[44] 陈雯雯,申卫收,韩成,等.施用不同配比菇渣、熟牛粪对酸性土壤质量和花生产量的影响[J].中国土壤与肥料,2014(1): 69-74.

[45] 朱小平,刘微,高书国,等. NaCl 胁迫下施用有益微生物菌糠对豌豆生长及结瘤的影响[J].河北科技师范学院学报,2004,18(1):20-22.

[46] 曹健,杨秋,赫新洲,等.有机肥对红葱生长和产量及土壤肥力的影响[J].中国农学通报,2011,27(16):266-272.

[47] 谢修鸿,李玉.姬松茸菌糠改良苏打盐碱土对土壤化学性质及牧草生长的影响[J].吉林农业大学学报,2010,32(5):

518-522.

[48] Lucas R W, Klaminder J, Futter M N, et al. A meta-analysis of the effects of nitrogen additions on base cations: implications for plants, soils, and streams[J]. Forest Ecology and Management, 2011, 262(2):95-104.

[49] 蒋元继,唐亚,刘本洪,等.香菇菌渣吸附水溶液中重金属铅的研究[J].西南农业学报,2010,23(5):1615-1619.

[50] 张海波,闫洋洋,程红艳,等.菌糠生物炭对土壤铅镉形态及甜菜生长的影响[J].山西农业大学学报(自然科学版),2021,41(1):103-112.

[51] 韩佳益,王雨阳,赵庆杰,等.不同腐解阶段羊粪与海藻有机肥对 Pb(II) 的吸附[J].农业环境科学学报,2021,40(9):1904-1914.

真菌(以下简称“AMF”)广泛分布于农田、森林等土壤环境<sup>[8]</sup>。国内已发现的 AMF 虚拟种有 145 个,隶属于 8 科 12 属<sup>[9]</sup>,包括粮食作物、蔬菜和中药材等 90% 以上陆地维管植物可与 AMF 形成菌根结构<sup>[10]</sup>。

AMF 与植物根系形成互惠的根系系统<sup>[11]</sup>,增强植物营养和矿质吸收,提高光合速率和生物量<sup>[12]</sup>。其形成的菌丝网可增加病原菌侵染根系难度<sup>[13]</sup>,AMF 可与病原菌竞争生态位抑制其繁殖从而防控土传病害。AMF 能诱导植物产生防御酶类,这些酶类是植物抗病性的重要指标<sup>[14-15]</sup>。免耕能促进 AMF 生长和提高土壤碱性磷酸酶活性,持续免耕 4 年的土壤 AMF 群落结构没有退化<sup>[16]</sup>,提高大粒径团聚体中 AMF 种群丰度可促进土壤团聚<sup>[17]</sup>,AMF 增殖和活性的提高可增强抑病能力<sup>[18]</sup>。单一作物轮作会抑制根际 AMF 活性和数量<sup>[19]</sup>,而采用间作方式能够有效提高土壤中 AMF 的丰富度和多样性,促进 AMF 的侵染和菌根的形成<sup>[20]</sup>。

半夏的相关研究主要集中在栽培技术、病虫害防治、轮作障碍因子等,有关半夏种植土壤 AMF 多样性的研究虽有<sup>[21-24]</sup>,但对采用不同作物轮作土壤 AMF 多样性与土壤环境因子的相关性研究却鲜见报道。本研究通过高通量测序,对赫章半夏道地产区轮作样地土壤 AMF 的群落组成及多样性进行分析,并进一步探究不同轮作土壤 AMF 组成与土壤环境因子的关系,以期对土壤环境因子调控 AMF 提高半夏栽培效益提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验用半夏种子采用贵州省赫章县本地选育优势品种赫麻芋 1 号(贵州省农业农村厅认证品种),挑选直径为 1.0~1.5 cm 的健康半夏种子用 2 000 倍石灰水浸泡 5 h 进行消毒处理后漂洗 3 次,用 62.5 g/L 精甲·咯菌腈悬浮种衣剂拌种晾干备用。

### 1.2 试验地概况

田间试验设在贵州省毕节市赫章县双坪乡贵州山地高效农业公司半夏种植区域,选择土层深厚肥沃、排灌良好的沙质土壤为试验基地,划分不同小区连续栽种半夏与不同蔬菜,形成不同轮作茬数的处理样地。

### 1.3 土壤样本采集

于贵州省赫章县双坪镇赫章县山地高效农业

科技有限公司半夏种植基地内,按照随机取样方法,采集未种植(CK)、半夏—蔬菜(白菜)轮作 1 年(LZ1)、半夏—蔬菜(甘蓝)轮作 2 年(LZ2)、半夏—蔬菜(萝卜)轮作 3 年(LZ3)、半夏—蔬菜(玉米)轮作 4 年(LZ4)的不同样地半夏根际土壤,每个样地按照随机取样法取 5 份后混合为 1 个样,每组 3 个生物学重复,采集的土壤过 20 目筛后一部分置于 -80 ℃ 下保存,用于土壤微生物 DNA 提取测序;另一部分室内自然风干后用于土壤理化性质测定。

### 1.4 理化指标及酶活性测定

对不同样本土壤理化性质和酶活性测定具体方法如下:土壤样品经硫酸—加速剂消解后用凯氏法测定全氮(TN)含量;经 NaOH 碱熔后用钼锑抗分光光度法测定全磷(TP)含量、用火焰光度计法测定全钾(TK)含量;用玻璃电极法测定 pH 值;用重铬酸钾氧化—外加热法测定有机质(OM)含量;用碱解扩散法测定碱解氮(AN)含量;用 B-0.05 mol/L HCl-0.025 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1/2 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 法测定有效磷(OP)含量;用乙酸铵浸提—火焰光度计测定速效钾(AK)含量;用高锰酸钾滴定法测定过氧化氢酶(CAT)活性;用试剂盒测定脲酶(URE)、蔗糖酶(SC)、酸性磷酸酶(ACP)、多酚氧化酶(PPO)活性。以上指标测定委托南京卡文思检测技术有限公司负责。

### 1.5 DNA 提取、扩增和高通量测序

根据 FastDNA® Spin Kit for Soil 说明书进行土壤微生物群落总基因组 DNA 抽提。以提取的 DNA 为模板进行 Nest-PCR 扩增,一轮引物为 AML1F(5'-ATCAACTTTCGATGGT AGGATAGA-3')和 AML2R(5'-GAACCCAAACACTTTGTTTCC-3');二轮引物为 AMV 4-5NF(5'-AAGCTCGTAGTTGA ATTTCCG-3')和 AMDGR(5'-CCCAACTATCCCTA TTAATCAT-3')。PCR 反应每个样本 3 次重复。将同一样本的 PCR 产物混合后回收,利用 Illumina 公司的 MiSeq PE300 平台进行测序。以上相关流程均委托上海美吉生物医药科技有限公司完成。

### 1.6 数据统计与分析

以 97% 相似度的 OTU 为分类学水平,将所有样本序列按最小样本序列数进行抽平,利用 Mothur 计算 α 多样性指数,并采用 Wilcoxon 秩和检验进行 α 多样性的组间差异分析;基于 bray-curtis 距离算法检验样本间微生物群落结构的相似性;通过 R (version 3.3.1)、pheatmap package 软件计算环境因子与物种之间的相关性系数(Spearman 等级相关系

数)数值矩阵获得 Heatmap 图;用 Network 软件进行双因素相关性网络分析(相关系数类型:Spearman;相关系数绝对值 $\geq 0.5$ );采用 Excel 2017 软件数据处理;使用 SPSS 22.0 进行数据的统计分析。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质及酶活性分析

对 5 个采样地半夏根际土壤基本理化性质和酶活性 8 项指标进行检测(表 1),不同样地土壤理化性质及酶活性存在一定的显著性或极显著性差异。TN、TP、AN、ACP 含量随轮作时间的延长呈波浪式降低;TK 含量随轮作时间延长而增加;AK、CAT、URE、SC、PPO 活性随轮作的延长而先增后降;pH 值在 CK、LZ1、LZ2 土壤呈强酸性,在 LZ3 呈弱碱性,在 LZ4 呈弱酸性。

2.2 土壤 AMF 高通量测序结果及多样性分析

序列经抽平后,采用反映物种丰富度的 Shannon 指数绘制稀释曲线,随着样品测序深度的增加,15 个样品的 OTU 稀释曲线趋于平缓(图 1),表明其测序深度足够,而且各样品测序覆盖度均在 99.95% 以上,说明本次检测的结果能够客观地代表样本中 AMF 的多样性。

所有样本共聚类到 155 个 OTU,图 2 韦恩图为样本间独有、共有 OTU 数量,下方柱状图为每一样本 OTU 总数。在轮作年限中,OTU 数量上表现为 LZ4 > LZ3 > LZ2 > LZ1,轮作越长土壤中 AMF 的 OTU 种类越多,轮作 4 年 AMF 的 OTU 达 90 种(图 2)。

对不同样地的  $\alpha$  多样性指数分析(表 2)表明:LZ4 的 AMF 群落多样性和丰富度均为最高,其次为 CK,而轮作一年 LZ1 为最低。反映土壤 AMF 丰富度的 ACE 和 Chao 指数分别在(27.501 7 $\pm$ 9.118 3)~(70.624 8 $\pm$ 3.566 6)和(18.666 7 $\pm$ 3.055 1)~(68.566 7 $\pm$ 3.156 5)之间,反映 AMF 群落多样性的 Shannon 指数在(1.337 5 $\pm$ 0.404 3)~(3.055 2 $\pm$ 0.103 5)之间,其中,LZ4 样地半夏根际土壤 AMF 多样性最丰富,Shannon 指数和 Chao 指数分别为 3.055 2 $\pm$ 0.103 5 和 68.566 7 $\pm$ 3.156 5。与之相反,LZ1 样地 AMF 多样性最低,Shannon 指数、Chao 指数分别为 1.337 5 $\pm$ 0.404 3 和 18.666 7 $\pm$ 3.055 1。反映土壤 AMF 优势度的 Simpson 指数在(0.074 7 $\pm$ 0.006 1)~(0.346 3 $\pm$ 0.169 5)之间,LZ1 样地的 AMF 优势度最高,轮作土壤中 AMF 群落的优势度均高于对照组(CK)。

表 1 各样地土壤理化性质及酶活性

处理	TN 含量 (g/kg)	TP 含量 (g/kg)	TK 含量 (g/kg)	pH 值	AK 含量 (mg/kg)	AN 含量 (mg/kg)	OP 含量 (mg/kg)	OM 含量 (g/kg)	CAT 活性 (U/g)	URE 活性 (U/g)	SC 活性 (U/g)	ACP 活性 (U/g)	PPO 活性 (U/g)
CK	3.360 $\pm$ 0.070 <sup>c</sup>	1.073 $\pm$ 0.014 <sup>d</sup>	10.300 $\pm$ 0.346 <sup>bA</sup>	5.320 $\pm$ 0.044 <sup>c</sup>	151.000 $\pm$ 1.732 <sup>d</sup>	478.933 $\pm$ 84.121 <sup>aA</sup>	2.667 $\pm$ 0.321 <sup>eE</sup>	82.100 $\pm$ 0.625 <sup>aA</sup>	1.674 $\pm$ 0.016 <sup>d</sup>	0.662 $\pm$ 0.022 <sup>hB</sup>	12.574 $\pm$ 1.299 <sup>hB</sup>	4.362 $\pm$ 0.062 <sup>c</sup>	0.735 $\pm$ 0.024 <sup>dC</sup>
LZ1	3.740 $\pm$ 0.062 <sup>hB</sup>	1.655 $\pm$ 0.030 <sup>aBa</sup>	8.967 $\pm$ 0.416 <sup>bB</sup>	5.380 $\pm$ 0.072 <sup>c</sup>	172.667 $\pm$ 3.215 <sup>cC</sup>	459.700 $\pm$ 2.138 <sup>aA</sup>	15.100 $\pm$ 0.656 <sup>hB</sup>	82.067 $\pm$ 2.548 <sup>aA</sup>	1.299 $\pm$ 0.080 <sup>eE</sup>	0.623 $\pm$ 0.003 <sup>c</sup>	13.901 $\pm$ 0.592 <sup>hB</sup>	4.175 $\pm$ 0.074 <sup>dC</sup>	0.883 $\pm$ 0.023 <sup>cC</sup>
LZ2	4.513 $\pm$ 0.075 <sup>aA</sup>	1.689 $\pm$ 0.050 <sup>aA</sup>	10.567 $\pm$ 0.058 <sup>aBa</sup>	4.890 $\pm$ 0.044 <sup>d</sup>	208.667 $\pm$ 2.517 <sup>hB</sup>	525.567 $\pm$ 5.582 <sup>aA</sup>	6.400 $\pm$ 0.458 <sup>d</sup>	71.233 $\pm$ 3.134 <sup>bB</sup>	1.974 $\pm$ 0.068 <sup>c</sup>	0.791 $\pm$ 0.012 <sup>aA</sup>	14.106 $\pm$ 1.794 <sup>hB</sup>	5.023 $\pm$ 0.086 <sup>aA</sup>	1.531 $\pm$ 0.085 <sup>hB</sup>
LZ3	1.890 $\pm$ 0.017 <sup>eE</sup>	1.351 $\pm$ 0.039 <sup>cB</sup>	10.667 $\pm$ 0.351 <sup>aBa</sup>	7.240 $\pm$ 0.069 <sup>aA</sup>	275.667 $\pm$ 6.506 <sup>aA</sup>	270.067 $\pm$ 4.429 <sup>hB</sup>	11.400 $\pm$ 0.436 <sup>c</sup>	47.700 $\pm$ 0.700 <sup>d</sup>	2.627 $\pm$ 0.058 <sup>aB</sup>	0.574 $\pm$ 0.008 <sup>d</sup>	18.246 $\pm$ 0.978 <sup>aA</sup>	3.783 $\pm$ 0.104 <sup>eD</sup>	1.840 $\pm$ 0.128 <sup>aA</sup>
LZ4	2.737 $\pm$ 0.075 <sup>hD</sup>	1.619 $\pm$ 0.043 <sup>bA</sup>	11.000 $\pm$ 0.436 <sup>aA</sup>	6.213 $\pm$ 0.042 <sup>hB</sup>	123.667 $\pm$ 6.506 <sup>eE</sup>	329.967 $\pm$ 5.235 <sup>hB</sup>	46.167 $\pm$ 0.451 <sup>aA</sup>	53.533 $\pm$ 1.332 <sup>c</sup>	2.207 $\pm$ 0.028 <sup>hB</sup>	0.527 $\pm$ 0.005 <sup>eE</sup>	10.137 $\pm$ 0.272 <sup>c</sup>	4.665 $\pm$ 0.047 <sup>hB</sup>	1.717 $\pm$ 0.048 <sup>aB</sup>

注:同列数据后不同大写字母、小写字母表示处理间在 0.01、0.05 水平上差异显著。表 2 同。

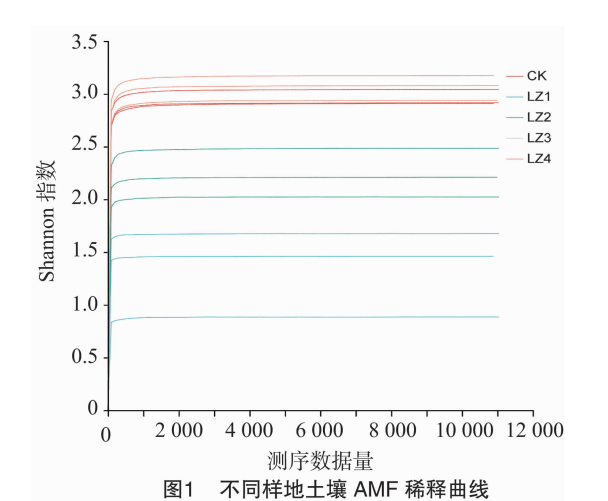


图1 不同样地土壤 AMF 稀释曲线

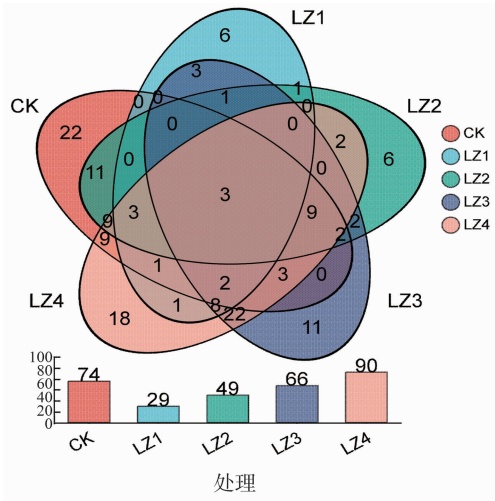


图2 不同样地土壤 AMF 群落分布韦恩图

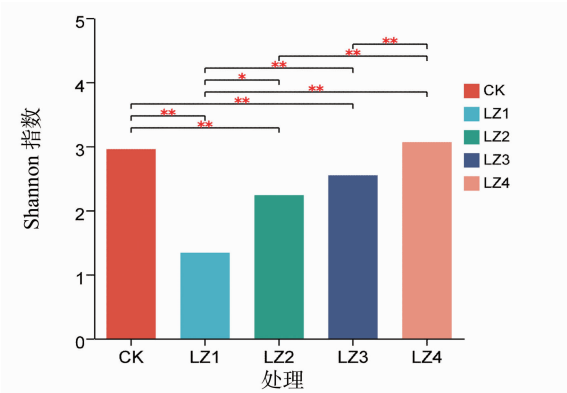
表 2 不同样地土壤 AMF 群落多样性指数分析

处理	Shannon 指数	Simpson 指数	ACE 指数	Chao 指数	覆盖度 (%)
CK	2.960 0 ± 0.066 9aA	0.074 7 ± 0.006 1bB	63.596 0 ± 1.995 9aAB	61.864 3 ± 1.107 6aAB	99.95
LZ1	1.337 5 ± 0.404 3cC	0.346 3 ± 0.169 5aA	27.501 7 ± 9.118 3bC	18.666 7 ± 3.055 1dD	99.97
LZ2	2.228 5 ± 0.226 9bB	0.156 6 ± 0.032 6bAB	36.249 1 ± 9.651 5bBC	35.166 7 ± 8.548 9cC	99.97
LZ3	2.550 3 ± 0.045 2bAB	0.130 2 ± 0.020 2bB	59.727 1 ± 23.827 1aABC	49.333 3 ± 6.557 4bB	99.94
LZ4	3.055 2 ± 0.103 5aA	0.084 0 ± 0.015 1bB	70.624 8 ± 3.566 6aA	68.566 7 ± 3.156 5aA	99.95

由样本土壤 AMF 群落组间差异检验(图 3)可知,不同组间存在一定显著性差异。其中 CK 与 LZ1、LZ2、LZ3 之间有极显著差异( $P < 0.01$ ),CK 与 LZ4 之间无显著差异;LZ1 与 LZ2 之间有显著差异( $P < 0.05$ ),与 LZ3、LZ4 之间有极显著差异( $P < 0.01$ );LZ2 与 LZ3 之间无显著差异,与 LZ4 有极显著差异( $P < 0.01$ );LZ3 与 LZ4 之间有极显著差异( $P < 0.01$ )。以上表明,轮作时间越长土壤中 AMF 越趋于稳定,与未种植(CK)基本接近,但由于种植半夏与蔬菜的轮作,从而导致土壤中 AMF 比未种植过半夏的土壤更丰富;半夏土壤 AMF 的多样性和丰度均随着轮作时间的延长而增加。

2.3 土壤 AMF 组成及丰度分析

在科的水平,15 个样品中共注释到了 12 个科的 AMF 类群,将物种丰度占比小于 0.01 的归入其他(others)(图 4),球囊霉科(Glomeraceae)、近明球囊霉科(Clarioideoglomeraceae)在 5 个样地中均有,为主要的优势类群,丰度总占比达 91.65%,其中球囊霉科占比 63.06%;球囊霉科在 CK、LZ1、LZ3 中为绝对优势类群,球囊霉科和近明球囊霉科在 LZ2、LZ4 中的丰度基本接近;而类球囊霉科(Paraglomeraceae)在 CK、LZ1、LZ2、LZ4 中占有一定



\* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.01$ , \*\*\* 表示  $P < 0.001$ , 图 7 同

图3 不同样地土壤 AMF 群落组间差异检验结果

的比例,在 LZ3 土壤样品中未被检出。在属的水平,15 个样品中共注释到了 14 个属的 AMF 菌类群(图 5),球囊霉属(Glomus)、近明球囊霉属(Clarioideoglomus)为主要的优势类群,占总序列数的 91.65%,其中球囊霉属占比达 63.06%,2 个优势属在各样本中的分布规律与科水平一致。在种的水平,15 个样品中共注释到了 63 个种(图 6),遗憾的是 AMF 在种水平很多未被具体分类,说明 AMF 在种水平的研究还有较大的空间。

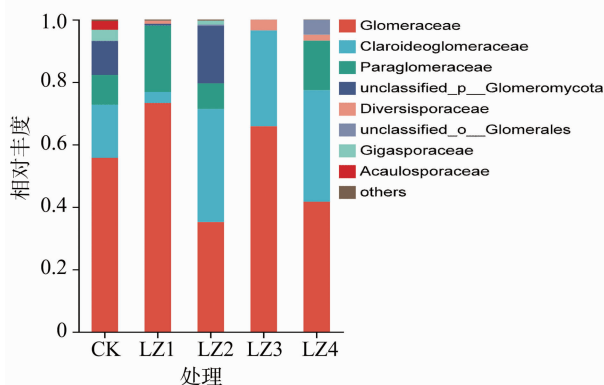


图4 科水平物种组成

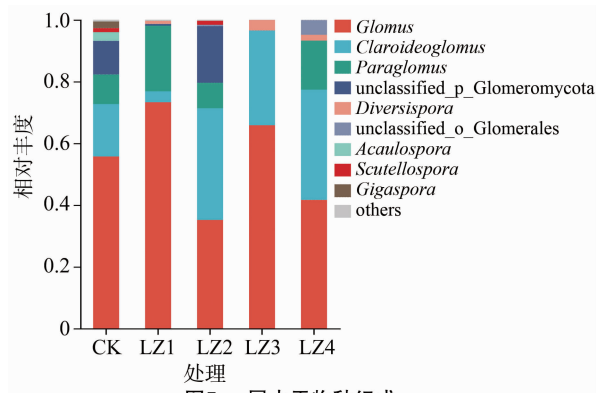


图5 属水平物种组成

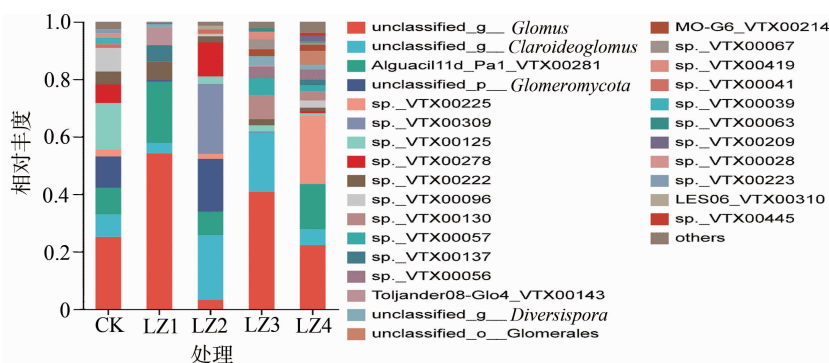


图6 种水平物种组成

## 2.4 土壤 AMF 群落结构与土壤环境因子相关性分析

对丰度排名 Top10 的 AMF 科与环境因子进行相关性聚类热图分析。结果(图 7)表明,无梗囊霉属(*Acaulospora*)、巨孢囊霉属(*Gigaspora*)的相对丰度与 OM 含量显著正相关,与 TP 含量、OP 含量、PPO 活性极显著负相关( $P < 0.01$ );球囊菌门(*Glomeromycota*)未分类属的相对丰度与 OM 含量显著正相关,与 TN 含量、AN 含量、URE 活性极显著正相关,与 pH 值( $P < 0.001$ )、OP 含量( $P < 0.01$ )极显著负相关,与 PPO 活性显著负相关;盾巨孢囊霉属(*Scutellospora*)、原囊霉属(*Archaeospora*)的相对丰度与 URE 活性显著正相关,与 pH 值、OP 含量显著( $P < 0.05$ )或极显著( $P < 0.01$ )负相关;近明囊霉属的相对丰度与 OM 含量显著负相关,与 TK 含量、CAT 活性、PPO 活性显著( $P < 0.05$ )或极显著( $P < 0.01$ )正相关;类球囊霉属(*Paraglomus*)、球囊霉目(*Glomerales*)的未分类属的相对丰度与 AK 含量、SC 活性显著( $P < 0.05$ )或极显著( $P \leq 0.01$ )负相关;球囊霉目(*Glomerales*)未分类属的相对丰度与 OP 含量显著正相关;球囊霉属的相对丰度与 ACP 活性极显著负相关,与 TK 含量显著负相关;多

孢囊霉属(*Diversispora*)的相对丰度与 ACP 活性、OM 含量、TN 含量、AN 含量、URE 活性显著或极显著负相关,与 pH 值、OP 含量、CAT 活性、PPO 活性显著或极显著正相关。

对 AMF 属水平群落与环境因子进行双因素 Network 网络分析。结果(图 8)表明,未分类的球囊霉门的相对丰度与 URE 极显著正相关,与 pH 值极显著负相关;多孢囊霉属的相对丰度与 pH 值极显著正相关,与 AN 极显著负相关。以上结果与聚类热图(图 7)相互印证。AMF 群落与环境因子的连线为:多孢囊霉属为 9 条、未分类的球囊霉门为 6 条、巨孢囊霉属为 4 条、无梗囊霉属为 4 条、近明球囊霉属为 4 条、双型囊霉属(*Ambispora*)为 4 条、原囊霉属为 3 条、盾巨孢囊霉属(*Scutellospora*)为 3 条,与环境因子的连线越多,表明该群落与环境因子的关系越密切,受影响因素越多。综上所述,对 AMF 菌群的生长调节需要考虑多因素环境因子的相互关系,这为采用施肥调整土壤结构从而有目的的增加某属 AMF 菌群的丰度具有指导意义。

## 3 讨论与结论

土壤 pH 值、OM 含量、TN 含量、TP 含量、TK 含



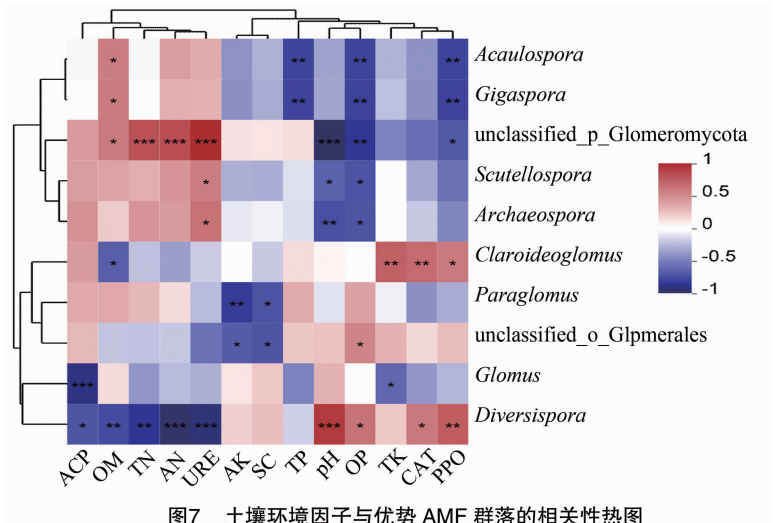


图7 土壤环境因子与优势 AMF 群落的相关性热图

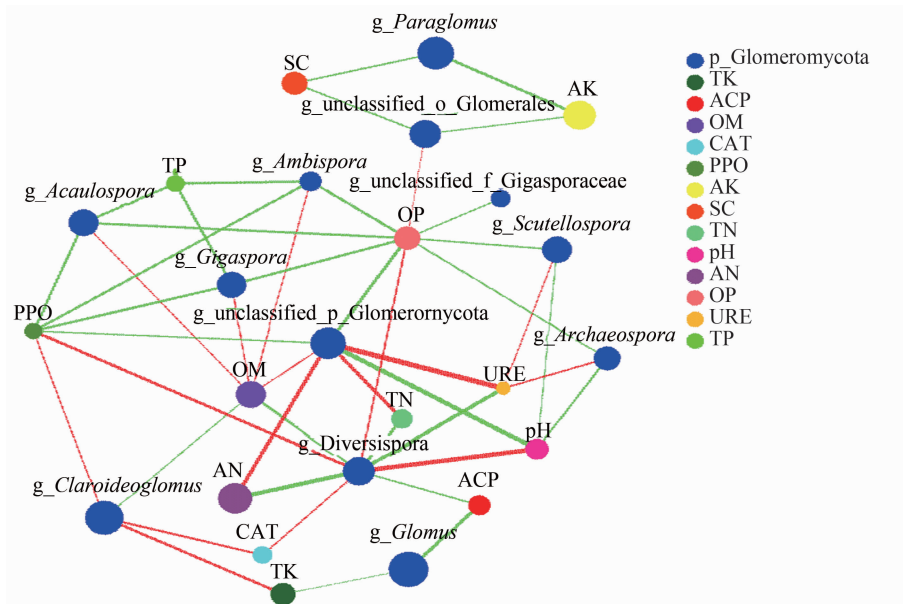


图8 土壤环境因子与 AMF 群落的双因素 Network 网络分析

量等能直观反映土壤肥力,对植物和微生物的生长具有重要影响。安艳发现,半夏连作根际土壤中 TN、TP、OP、OM 含量和 CAT、URE 活性等降低,AK 含量、PPO 活性升高<sup>[25]</sup>。杭烨等发现,单作半夏土壤细菌数量和放线菌数量低于其余 6 种间作组合,间作可以提高土壤综合肥力<sup>[26]</sup>。王礼科等发现,随半夏连作年限增加,AK、OP 含量下降<sup>[27]</sup>。本研究结果与上述既相似又有所不同,即均为 TN 含量、TP 含量、OM 含量、URE 活性下降,但 AK 含量、OP 含量、CAT 活性结果不同,其原因可能是不同栽培模式导致土壤环境因子发生规律不一致,本研究连续轮作与连作的区别在于在半夏采收过后种植一茬蔬菜,从而改变了土壤理化性质的变化规律。本研究结果表明,轮作情况下半夏根际土壤 TN 含量、TP

含量、AK 含量、AN 含量、URE 活性、SC 活性、ACP 活性、OM 含量随着轮作时间的延长最终降低;TK 含量、OP 含量、CAT 活性、PPO 活性随着轮作时间的延长而增加。

唐成林等发现,种植半夏后土壤中微生物数量增加<sup>[28]</sup>。施晓峰等发现,大量的 AMF 孢子存在于半夏根际土中,经鉴定得到 20 种 3 属,其中球囊霉属 16 种(80.0%),无梗囊霉属 3 种(15.0%),盾巨孢囊霉属 1 种(5.0%)<sup>[24]</sup>。何志贵发现,不同种植方式土壤真菌群落结构各自聚类,与种植时限无明显关系。种植方式的变换可显著抑制病原真菌而提升有益真菌丰度<sup>[29]</sup>。刘诗蓉等发现,随着半夏连茬次数的增加,根际土有益微生物丰度减少、有害微生物丰度增加,多样性降低,并认为这是连作障

碍形成的重要原因<sup>[30]</sup>。本研究发现,连续轮作情况下土壤 AMF 的种类和丰度均上升,Shannon 指数从 LZ1 的(1.337 5 ± 0.404 3)上升 LZ4 的(3.055 2 ± 0.103 5),说明随着轮作时间的延长,种植半夏土壤中 AMF 群落多样性越高;球囊霉科、近明球囊霉科为主要的优势菌群,不管是在科水平还是属水平的,所占总序列数比例均为 91.65%。

本研究中无梗囊霉属、巨孢囊霉属、球囊菌门未分类属、盾巨孢囊霉属、原囊霉属等的相对丰度与土壤有效磷之间呈现显著或极显著负相关性,说明随着土壤有效磷含量的增加,以上 AMF 菌群的物种丰度下降,这与 Tawaraya 等的研究结果类似,即较低的 OP 会促进 AMF 的生长<sup>[31]</sup>。张海波等发现,在偏碱性石灰土中的 AMF 多样性高于偏酸性黄壤<sup>[32]</sup>。本研究 LZ3 的土壤 pH 值偏碱性,其土壤中 AMF 多样性高于偏酸性的 LZ1、LZ2,但又低于偏酸性的 LZ4,说明偏碱性的土壤中 AMF 多样性要高于偏酸性土壤并不绝对,还与耕作模式、种植年限等相关。Liang 等发现,喀斯特地区 AMF 多样性与土壤 pH 值呈负相关,本研究中虽然部分 AMF 群落与 pH 值呈现负相关性,但多孢囊霉属却与 pH 值呈极显著正相关,说明该属的生长更偏向于碱性土壤<sup>[33]</sup>。在 pH 值为 5~9 的喀斯特地区,土壤碱性与球囊霉属比例正相关,该属可能处于更重要的生态位<sup>[34]</sup>。本研究中球囊霉属为主要优势菌群,近明球囊霉属次之,这与上述研究结果类似。

土壤微生物和土壤酶共同参与土壤的生物生化过程,土壤酶活性反映其生化反应过程的方向和强度<sup>[35-39]</sup>。AMF 能够增强寄主植物根系中相关酶活提高抗盐能力<sup>[40]</sup>。菌根能改善土壤 OM 含量、团粒结构和透气性<sup>[41]</sup>,增强脲酶、蔗糖酶等酶活性而减缓轮作危害<sup>[42-43]</sup>。AMF 通过调节植物根系分泌物降解酚酸类物质<sup>[44]</sup>。AMF 能与土壤其他有益微生物协同作用增强植株抵御能力,其诱发的防御反应可提高植物对病原菌抗性,促进养分、水分的吸收,改善轮作土壤生境状况,缓解轮作障碍的危害<sup>[44]</sup>。近明球囊霉、根内球囊霉、摩西斗管囊霉等能够促进宿主对营养元素的吸收和促进植物生长和生物量积累,根内根孢囊霉在高温胁迫下显著提高苍术根茎鲜质量、含水量、根干质量、地下总干质量、挥发油组分数,根内根孢囊霉在盐胁迫下可以增加罗勒对钾的吸收、降低对钠和氯化物的吸收<sup>[45-46]</sup>。本研究的土壤酶活性与样本 AMF 群落相

关性表明,AMF 群落与过氧化氢酶、脲酶、多酚氧化酶、酸性磷酸酶、蔗糖酶活性之间具有一定的相关性。而不同 AMF 与土壤酶活性之间的相关性有较大区别,如无梗囊霉属、巨孢囊霉属与 PPO 活性极显著负相关;球囊菌门的未分类属与 URE 活性极显著正相关,与 PPO 活性显著负相关;盾巨孢囊霉属、原囊霉属与 URE 显著正相关;近明囊霉属与 CAT、PPO 活性显著或极显著正相关;类球囊霉属、球囊霉目的未分类属与 SC 活性显著负相关;球囊霉属与 ACP 活性极显著负相关;多孢囊霉属与 ACP、URE 活性显著或极显著负相关,与 CAT、PPO 活性显著或极显著正相关。

#### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:化学工业出版社,2020:123-125.
- [2] 石青,赵宝林. 半夏的本草考证[J]. 陕西中医学院学报, 2013,36(2):90-92.
- [3] 陈铁柱,薛朝金,许文艺,等. 赫章半夏土壤环境质量分析与评价[J]. 时珍国医国药,2010,21(3):713-714.
- [4] 赵明勇,阮培均,梅艳,等. 喀斯特温凉气候区半夏高产栽培技术优化研究[J]. 作物杂志,2012(3):93-98.
- [5] 孙长青,赵泽英,李莉婕,等. 基于 GIS 的赫章县半夏生态适宜性的评价[J]. 贵州农业科学,2012,40(7):87-91.
- [6] 蒋婧,宋明华. 植物与土壤微生物在调控生态系统养分循环中的作用[J]. 植物生态学报,2010,34(8):979-988.
- [7] 何振立. 土壤微生物量及其在养分循环和环境质量评价中的意义[J]. 土壤,1997,29(2):61-69.
- [8] 王发园,林先贵,周健民. 丛枝菌根与土壤修复[J]. 土壤,2004, 36(3):251-257.
- [9] 王永明,范洁群,石兆勇. 中国丛枝菌根真菌分子多样性[J]. 微生物学通报,2018,45(11):2399-2408.
- [10] He X H, Duan Y H, Chen Y L, et al. A 60-year journey of mycorrhizal research in China: past, present and future directions [J]. Science China Life Sciences,2010,53(12):1374-1398.
- [11] Favre P, Bapaume L, Bossolini E, et al. A novel bioinformatics pipeline to discover genes related to arbuscular mycorrhizal symbiosis based on their evolutionary conservation pattern among higher plants[J]. BMC Plant Biology,2014,14(1):1-20.
- [12] van Driesche R G, Carruthers R I, Center T, et al. Classical biological control for the protection of natural ecosystems [J]. Biological Control,2010,54(2):S2-S33.
- [13] Merrild M P, Ambus P, Rosendahl S, et al. Common arbuscular mycorrhizal networks amplify competition for phosphorus between seedlings and established plants [J]. New Phytologist, 2013, 200 (1):229-240.
- [14] Prasad T K. Role of catalase in inducing chilling tolerance in pre-emergent maize seedlings [J]. Plant Physiology, 1997, 114 (4): 1369-1376.

- [15] Gechev T, Willekens H, van Montagu M, et al. Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress [J]. Journal of Plant Physiology, 2003, 160(5): 509–515.
- [16] Hu J L, Yang A N, Wang J H, et al. Arbuscular mycorrhizal fungal species composition, propagule density, and soil alkaline phosphatase activity in response to continuous and alternate no-tillage in Northern China [J]. CATENA, 2015, 133: 215–220.
- [17] Dai J, Hu J L, Zhu A N, et al. No tillage enhances arbuscular mycorrhizal fungal population, glomalin-related soil protein content, and organic carbon accumulation in soil macroaggregates [J]. Journal of Soils and Sediments, 2015, 15(5): 1055–1062.
- [18] 侯劭伟, 胡君利, 吴福勇, 等. 丛枝菌根真菌的抑病功能及其应用 [J]. 应用与环境生物学报, 2018, 24(5): 941–951.
- [19] Wu J H, Shen W S, Lin L M, et al. Testing the technology acceptance model for evaluating healthcare professionals' intention to use an adverse event reporting system [J]. International Journal for Quality in Health Care, 2008, 20(2): 123–129.
- [20] Bainard L D, Klironomos J N, Gordon A M. Arbuscular mycorrhizal fungi in tree-based intercropping systems: a review of their abundance and diversity [J]. Pedobiologia, 2011, 54(2): 57–61.
- [21] 沈雪莲. 半夏 AM 真菌及其共生效应研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2010.
- [22] 程俐陶, 郭巧生, 刘作易. 半夏丛枝菌根真菌侵染模式及侵染率动态变化 [J]. 贵州农业科学, 2009, 37(2): 37–39.
- [23] 程俐陶, 郭巧生, 刘作易. 栽培及野生半夏丛枝菌根研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(4): 405–410.
- [24] 施晓峰, 黄晶晶, 史亚, 等. 半夏丛枝菌根真菌多样性研究 [J]. 陕西中医药大学学报, 2017, 40(3): 75–81.
- [25] 安艳. 半夏连作障碍影响因子研究 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2018.
- [26] 杭烨, 罗夫来, 赵致, 等. 半夏间作不同作物对土壤微生物、养分及酶活性的影响研究 [J]. 中药材, 2018, 41(7): 1522–1528.
- [27] 王礼科, 罗夫来, 王华磊, 等. 半夏不同连作年限土壤酶活性、微生物及化感物质的分析 [J]. 中药材, 2021, 44(4): 798–801.
- [28] 唐成林, 王觉, 罗夫来, 等. 半夏茬后土壤微生物数量变化及其化感作用初探 [J]. 河南农业科学, 2016, 45(12): 135–137.
- [29] 何志贵. 半夏连作障碍发生机制与轮作修复研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [30] 刘诗蓉, 王红兰, 孙辉, 等. 半夏连作对根际土壤微生物群落的影响研究 [J]. 中草药, 2022, 53(4): 1148–1155.
- [31] Tawaray K, Saito M, Morioka M, et al. Effect of phosphate application to arbuscular mycorrhizal onion on the development and succinate dehydrogenase activity of internal hyphae [J]. Soil Science and Plant Nutrition, 1994, 40(4): 667–673.
- [32] 张海波, 梁月明, 冯书珍, 等. 土壤类型和树种对根际土丛枝菌根真菌群落及其根系侵染率的影响 [J]. 农业现代化研究, 2016, 37(1): 187–194.
- [33] Liang Y M, He X Y, Chen C Y, et al. Influence of plant communities and soil properties during natural vegetation restoration on arbuscular mycorrhizal fungal communities in a karst region [J]. Ecological Engineering, 2015, 82: 57–65.
- [34] 米屹东, 李信茹, 刘秀明, 等. 喀斯特地区丛枝菌根真菌多样性研究进展 [J]. 地球与环境, 2020, 48(5): 631–641.
- [35] 刘松涛, 田春丽, 曹雯梅, 等. 基于不同土壤质地棉花根际微生物和酶活性特征分析 [J]. 中国农业科技导报, 2020, 22(2): 73–79.
- [36] 李海云, 张建贵, 姚拓, 等. 退化高寒草地土壤养分、酶活性及生态化学计量特征 [J]. 水土保持学报, 2018, 32(5): 287–295.
- [37] Evelin H, Kapoor R. Arbuscular mycorrhizal symbiosis modulates antioxidant response in salt-stressed *Trigonella foenum-graecum* plants [J]. Mycorrhiza, 2014, 24(3): 197–208.
- [38] 孙吉庆, 刘润进, 李敏. 丛枝菌根真菌提高植物抗逆性的效应及其机制研究进展 [J]. 植物生理学报, 2012, 48(9): 845–852.
- [39] 冯翠, 衣政伟, 钱巍, 等. 不同种植模式下番茄根际土壤养分和真菌多样性分析 [J]. 江苏农业学报, 2022, 38(2): 462–468.
- [40] Zhao M, Li M, Liu R J. Effects of arbuscular mycorrhizae on microbial population and enzyme activity in replant soil used for watermelon production [J]. International Journal of Engineering, Science and Technology, 2010, 2(7): 17–22.
- [41] Xun F F, Xie B M, Liu S S, et al. Effect of plant growth-promoting bacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on oats in saline-alkali soil contaminated by petroleum to enhance phytoremediation [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(1): 598–608.
- [42] Zeng R S, Mallik A U. Selected ectomycorrhizal fungi of black spruce (*Picea mariana*) can detoxify phenolic compounds of *Kalmia angustifolia* [J]. Journal of Chemical Ecology, 2006, 32(7): 1473–1489.
- [43] 李亮, 蔡柏岩. 丛枝菌根真菌缓解连作障碍的研究进展 [J]. 生态学杂志, 2016, 35(5): 1372–1377.
- [44] 赵金莉, 贺学礼. AM 真菌对白芷抗旱性和药用成分含量的影响 [J]. 西北农业学报, 2011, 20(3): 184–189.
- [45] 杨敏, 张杰, 张德全, 等. 丛枝菌根真菌对掌叶大黄产量及次生代谢产物的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(10): 33–37.
- [46] 张霁, 刘大会, 郭兰萍, 等. 不同温度下丛枝菌根对苍术根茎生物量和挥发油的影响 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 372–375.
- [47] Prasad A, Kumar S, Khaliq A, et al. Heavy metals and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi can alter the yield and chemical composition of volatile oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) [J]. Biology and Fertility of Soils, 2011, 47(8): 853–861.