

不同种植年限红豆草根系生长及根际土壤真菌群落的分布特征

姚宇恒,南丽丽,梁鹏飞,李景峰,马彪,夏静,张泽龙

(甘肃农业大学草业学院/草业生态系统教育部重点实验室,甘肃兰州730070)

摘要:采用大田试验,运用真菌ITS高通量测序技术,探究不同种植年限红豆草(1、2、3 a和4 a)根系生长及根际土壤真菌群落分布与演替特征,为荒漠灌区红豆草人工草地的可持续利用提供参考。结果表明,随红豆草种植年限延长,其根颈直径、根颈入土深度、侧根直径、主根直径、侧根数和根颈分枝数均显著增加,4 a生草地分别是1 a生草地的3.7、3.1、5.0、3.4、2.0倍和3.6倍;根系直径、根体积、根表面积、根尖数和根长均先增加后降低;根际土壤pH值和速效磷含量减小,速效钾、速效氮含量先升后降,过氧化氢酶、脲酶、碱性磷酸酶和脱氢酶活性均显著增高,4 a生草地分别是1 a生草地的3.3、1.9、10.3倍和1.4倍;根际土壤真菌多样性(Shannon-wiener和Simpson指数)、丰富度(Chao1和ACE指数)均先升后降;优势真菌门为子囊菌门、毛霉门、壶菌门和被孢霉门,其中子囊菌门的相对丰度显著增大,其余优势菌门的相对丰度均先增后降;优势菌属为*Monographella*和镰刀菌属,其中*Monographella*的相对丰度显著增加,镰刀菌属的相对丰度显著降低。冗余分析和Monte Carlo置换检验表明,速效磷是影响真菌群落结构的主要环境因子。

关键词:红豆草;种植年限;根系形态;根际土壤;真菌群落

中图分类号:S541⁺.4;S154.3 文献标志码:A

Distribution characteristics of rhizosphere soil fungal community and root growth in sainfoin field with different planting years

YAO Yuheng, NAN Lili, LIANG Pengfei, LI Jingfeng, MA Biao, XIA Jing, ZHANG Zelong

(College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory of Grassland and Ecosystem, Ministry of Education, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: A field study was conducted to explore distribution and succession characteristics of sainfoin root growth and rhizosphere soil fungal communities in different planting years (1, 2, 3 a and 4 a) and provide a scientific basis for the sustainable use of sainfoin artificial grassland in arid desert oasis. Rhizosphere soil chemical properties and enzyme activities were analyzed while soil microbial DNA was extracted for PCR amplification and high throughput sequencing. Results showed that with the increase of planting years, crown diameter and depth, lateral and taproot diameters, numbers of lateral root and crown branches increased, and each index in four-year sainfoin field was 3.7, 3.1, 5.0, 3.4, 2.0, 3.6 times than that of one-year sainfoin field, respectively. The average root diameter, root volume, total root surface area, total root length, and root tip numbers increased first and then decreased. The pH and available phosphorus content reduced significantly, available potassium and available nitrogen contents decreased after an initial increase. The dehydrogenase, catalase, urease, and alkaline phosphatase activities increased significantly, and each index in four-year sainfoin field was 3.3, 1.9, 10.3, 1.4 times than that of one-year sainfoin field, respectively. The richness estimators of Ace and Chao1 and the diversity indices of Shannon and Simpson were activated first and then inhibited; Ascomycota, Mucoromycota, Chytridiomycota, and Mortierel-

收稿日期:2022-04-15

修回日期:2022-07-11

基金项目:甘肃省科技计划项目(22YF7NA112);国家自然科学基金(32160327);财政部和农业农村部:国家现代农业产业技术体系(CARS-34)

作者简介:姚宇恒(1999-),男,陕西蓝田人,硕士研究生,研究方向为牧草栽培与育种。E-mail:1032488256@qq.com

通信作者:南丽丽(1979-),女,甘肃天水人,教授,主要从事草种质资源、栽培与育种研究。E-mail:nanll@gsau.edu.cn

Ascomycota were the dominant fungal groups in sainfoin field, and the relative abundance of Ascomycota increased remarkably, whereas the relative abundance of other dominant fungi increased first and then decreased. The predominant taxa at the genus level were *Monographella* and *Fusarium*, and the relative abundance of *Monographella* increased significantly, while the relative abundance of *Fusarium* dropped significantly. Redundancy analysis and Monte Carlo permutation tests showed that available phosphorus content was the main factor affecting the soil fungal community structure.

Keywords: sainfoin; planting years; root morphology; rhizosphere soil; fungal community

红豆草 (*Onobrychis viciaefolia*) 高产且优质, 富含单宁, 不仅是畜禽的上等饲料^[1], 还能有效防止反刍动物臃胀病发生, 是干旱区、半干旱区、高寒区具有发展前途的豆科牧草^[2], 具有吸收水分、营养物质以及固定植物的作用^[3]。红豆草根系强大, 含有根瘤菌, 可进行生物固氮, 增加土壤有机质与氮素含量, 提高土壤肥力, 有效改良土壤, 防止水土流失^[4]。根际是土壤-植物生态系统最活跃的界面^[5], 是植物与微生物相互作用的特定区域, 直接受根系分泌物和碎屑的影响, 为植物和土壤微生物提供生长环境和营养物质^[6]。真菌是一类种类多、分布广的真核微生物, 其在土壤营养元素循环、有机质的形成和分解、土壤肥力的提高和保持、生态环境的改善等方面起重要作用, 是生态系统健康的指示物^[7]。Yang 等^[8]、钱雅丽等^[9]通过研究黄土高原半干旱区不同土地利用类型的真菌群落发现, 种植紫花苜蓿有利于土壤真菌的生长和繁殖, 从而提高真菌丰富度和多样性。汪其同等^[10]研究表明, 植物根系发达, 其分布可直接改变真菌群落结构多样性; 耿德洲等^[11]、马欣等^[12]研究发现, 种植年限对苜蓿真菌群落多样性有一定的影响。由于不同气候条件下红豆草的群体数量、根量有明显差异, 不同生长年限其凋落物数量不同, 分解后释放的有机物质成分和数量也有所不同, 会使土壤微生物群落结构组成和多样性发生不同程度的变化^[12]。目前对红豆草的研究主要集中在种子形态^[13]、抗性评价^[2, 14-16]、诱变选育^[17]、基因克隆^[18]等方面, 有关不同种植年限红豆草根系生长及根际土壤真菌群落多样性的研究鲜见报道。为此, 本试验以荒漠灌区不同生长年限红豆草为研究对象, 探明其根系生长规律和根际土壤真菌群落演变规律及优势菌属分布特征, 揭示红豆草种植年限对土壤真菌群落特征的影响, 为荒漠灌区生产实践中红豆草适宜种植年限的选择提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验在甘肃农业大学武威黄羊镇牧草试验站

(37°55'N, 102°40'E) 进行, 该站位于河西走廊东端, 属于温带干旱荒漠性气候, 海拔 1 530.88 m, 年均气温 7.2℃, 年均降水量 150 mm, 蒸发量 2 019.90 mm, 无霜期 154 d^[1]; 土壤类型为沙壤土, 偏碱性。0~20 cm 土层 pH 值为 8.26, 有机质含量为 9.41 g·kg⁻¹, 速效氮、磷、钾含量分别为 84.32、19.11 mg·kg⁻¹ 和 68.84 mg·kg⁻¹。

1.2 样品采集

于 2021 年 7 月下旬选取武威牧草试验站不同种植年限 (1、2、3、4 a) 的甘肃红豆草 (*O. viciaefolia* 'Gansu') 为研究对象, 割除地上部分, 地下部分用壕沟法挖取土层, 截取 50 cm 土层根系, 取 10 株单株, 去除根系周围土壤, 用毛刷取紧贴根系的根际土, 将每个处理的 10 次重复进行混合, 剔除植物根系、石块等杂物后, 装入无菌样品采集袋, 放入采样箱 (-4℃) 带回实验室。根际土样分为两份, 一份在 4℃ 下保存用于土壤微生物总 DNA 提取及酶活性的测定, 另一份自然风干后过 0.25 mm 筛测定土壤化学性质。根系用清水洗净, 自然风干后测定根系及根颈指标。

1.3 测定指标和方法

土壤化学指标参考鲍士旦^[19]的方法进行, 其中速效氮 (Available nitrogen, AN) 采用碱解扩散法测定, 速效磷 (Available phosphorus, AP) 采用 0.5 mol·L⁻¹ NaHCO₃ 浸提-钼锑抗比色法测定, 有机质 (Soil organic matter, SOM) 采用重铬酸钾容量法 (外加加热法) 测定, pH 值为配置土水比 1:5 悬液后用 pH S-4 智能酸度计 (赛多利斯科学仪器有限公司, 北京) 测定。

土壤酶活性参考关松荫^[20]的方法进行, 其中脲酶 (Urease, UA) 采用靛酚蓝比色法测定, 碱性磷酸酶 (Alkaline phosphatase, APA) 采用磷酸苯二钠比色法测定, 脱氢酶 (Dehydrogenase, DHA) 采用氯化三苯基四氮唑比色法测定, 过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 采用高锰酸钾滴定法测定。

根系总表面积、根系总长度、根系平均直径、根体积和根尖数等根系形态指标采用 WinRHIZO 根系

分析系统软件获得。用 Marquez-Ortiz 法^[21]和 Johnson 法^[22]测定红豆草根颈形态,包括根颈直径(游标卡尺测量根颈膨大处)、根颈入土深度(从地表到根颈上端的垂直距离)、侧根直径(游标卡尺测量侧根基部)、侧根数(从根颈长出的分枝)、根颈分枝数(从茎上长出的分枝)以及主根直径(0~10 cm 土层主根中间部位粗度)。

土壤基因组 DNA 的提取和 PCR 扩增:采用 SDS(十二烷基硫酸钠, Sodium dodecyl sulfate)方法对样本的基因组 DNA 进行提取后,用无菌水稀释样品至 $1 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$, 并作为模板,使用带 Barcode 的特异引物和高效高保真酶进行 PCR。使用 ITS5-1737F 和 ITS2-2043R 引物和高效高保真酶进行 PCR,确保扩增效率和准确性,每个样品重复 3 次。反应产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测。使用 NEBNext® Ultra™ IIDNA Library Prep Kit 建库试剂盒进行文库构建、定量后,用 NovaSeq6000 测序系统进行测序(诺禾致源生物信息科技有限公司,北京)。下机数据经 QIIME2 进行拼接、过滤,去除嵌合体后得到有效数据(Clean data)^[23-24]后,使用 DADA2^[25]降噪的方法获得去重的序列扩增子序列变异(Amplicon sequence variants, ASVs)。

1.4 统计分析

用 Excel 2017 进行数据统计,用 SPSS 20.0 软件对数据进行单因素方差分析,用 Duncan 法对数据进行多重比较。采用 QIIME2 的 Classify-sklearn 算法^[26-27]对 ASVs 进行物种注释(设定阈值为 0.8~1.0)与序列比对;采用 QIIME2 软件计算 Alpha 多样

性指数(包括多样性指数 Shannon-wiener 和 Simpson、丰富度指数 Chao1 和 ACE),用 R 软件(2.15.3)绘制稀释曲线;用 CANOCO 4.0 软件进行冗余分析,用 Monte Carlo 置换检验计算因子的重要性。

2 结果与分析

2.1 不同生长年限红豆草根系及根颈形态分布特征

由表 1 可知,随红豆草种植年限延长,根颈直径、根颈入土深度、侧根直径、侧根数、根颈分枝数和主根直径均逐渐增大,4 a 生红豆草达最大值,且显著高于其他年限,各指标分别是 1 a 生草地的 3.7、3.1、5.0、2.0、3.6 倍和 3.4 倍;根系平均直径、根体积、根系总表面积、根系总长及根尖数均随种植年限增加呈先升高后降低的变化趋势,除根尖数为 3 a 生草地最大外,其余指标均在 2 a 生草地增至最高,各指标最大值分别较 1 a 生草地增加 223.9%、857.9%、500.5%、292.5%、276.5%。

2.2 根际土壤性质差异分析

由表 2 可知,红豆草种植年限对其根际土壤化学、生物学性质影响显著($P < 0.05$)。其中 1、3 a 生红豆草地根际土壤 SOM 含量显著高于 2、4 a 生;pH 值和 AP 含量均随着种植年限的增加而减小;AK 和 AN 含量随着种植年限的增加先升高后降低,且 3 a 生时其含量均显著高于其他年份;CAT、UA、APA 和 DHA 活性均随着种植年限的增加显著升高,4 a 生草地 4 种酶活性均最强,分别是 1 a 生草地的 3.3、1.9、10.3 倍和 1.4 倍。

表 1 不同生长年限红豆草根系生长变化情况

Table 1 Root growth changes of sainfoin with different planting years

种植年限 Planting year /a	根颈直径 Crown diameter /mm	根颈入土深度 Crown depth /cm	侧根直径 Lateral diameter /mm	侧根数 Lateral root number	根颈分枝数 Crown branches number	主根直径 Taproot diameter /mm
1	5.85±1.53c	11.00±1.85d	0.51±0.20c	19±7.63c	5±1.75c	4.22±0.74c
2	13.87±5.99b	17.11±4.33c	1.71±0.26b	29±4.97b	16±7.09b	10.16±3.33b
3	15.26±6.17b	26.89±9.69b	1.86±0.51b	31±10.31b	17±9.03b	10.66±2.71b
4	21.56±9.52a	33.55±3.88a	2.56±0.76a	38±12.82a	18±1.23a	14.41±3.35a
种植年限 Planting year /a	根系平均直径 Average root diameter/mm	根体积 Root volume /cm ³	根系总表面积 Total root surface area/cm ²	根系总长 Total root length/mm	根尖数 Root tip number	
1	0.71±0.07c	1.07±0.25c	59.99±3.40d	272.27±7.01d	2006.50±3.59d	
2	2.30±0.33a	10.25±2.73a	360.22±7.02a	1068.62±8.66a	6048.00±4.48b	
3	1.61±0.33b	7.37±1.27b	253.92±5.92b	691.02±6.15b	7554.00±4.72a	
4	1.94±0.62b	8.01±1.51b	186.73±8.49c	482.55±3.36c	4291.80±7.54c	

注:数据为平均值±标准差($n=3$),同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

Note: Values are means ± standard deviation ($n=3$). Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$). The same below.

2.3 根际土壤真菌群落丰度与 Alpha 多样性分析

由表 3 可知,各样地覆盖度均在 99.0% 以上,并结合样品稀释曲线均趋于平缓,说明本研究测序数据合理,能够准确反映出土壤真菌群落的真实信息(图 1A)。1、2、3、4 a 生有效序列介于 71209 ~

75781, OTUs 数分别为 423、473、502、456; 随种植年限增加, Chao1 和 ACE 指数、Shannon-wiener 和 Simpson 指数均先增大后减小, 分别在 3、2 a 种植年限时增至最高。各处理共有 OTUs 数 1141 个(图 1B), 1、2、3、4 a 生特有 OTUs 数分别为 69、97、98 个和 88 个。

表 2 种植年限对红豆草根际土壤化学性质及酶活性的影响

Table 2 Effects of rhizosphere soil chemical properties and enzyme activities in sainfoin field with different planting years

种植年限 Planting year/a	有机质 SOM /(g · kg ⁻¹)	pH	速效钾 AK /(mg · kg ⁻¹)	速效磷 AP /(mg · kg ⁻¹)	速效氮 AN /(mg · kg ⁻¹)	脱氢酶 DHA /(mg · g ⁻¹ · d ⁻¹)	过氧化氢酶 CAT /(mg · g ⁻¹ · h ⁻¹)	脲酶 UA /(mg · g ⁻¹ · d ⁻¹)	碱性磷酸酶 APA /(mg · g ⁻¹ · d ⁻¹)
1	0.82±0.05a	8.19±0.02a	32.88±0.99c	20.46±1.96a	71.21±1.63d	0.003±0.000b	0.15±0.03c	0.07±0.01c	1.21±0.16d
2	0.54±0.05c	8.16±0.01a	40.02±0.46b	13.84±1.03b	104.56±1.49b	0.004±0.000b	0.21±0.01b	0.12±0.02c	1.42±0.03c
3	0.82±0.03a	8.14±0.01a	49.26±1.71a	11.21±1.22c	107.81±1.06a	0.004±0.000b	0.22±0.03b	0.47±0.10b	1.69±0.27b
4	0.63±0.03b	8.03±0.06b	36.51±0.43b	9.00±0.19d	85.95±1.50c	0.01±0.00a	0.29±0.03a	0.72±0.07a	1.75±0.06a

表 3 样品序列数统计、丰富度与多样性指数

Table 3 Sample sequence number statistics, richness and diversity index

生长年限 Growing year/a	有效序列 Effective sequence	分类单元 Observed OTUs	Chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index	香农-威纳指数 Shannon-wiener index	覆盖度 Coverage/%	辛普森指数 Simpson index
1	75145	423±8.19c	458.69±2.54d	467.33±4.76c	4.33±0.88b	0.999±0.000a	0.86±0.09b
2	71209	473±9.78b	506.09±9.93b	514.77±3.52b	5.39±0.45a	0.999±0.000a	0.95±0.02a
3	74337	502±9.42a	541.06±5.26a	549.70±6.86a	4.47±0.47b	0.998±0.000a	0.84±0.07b
4	75781	456±9.12b	491.86±7.28c	500.13±3.57b	4.52±0.21b	0.999±0.000a	0.89±0.00b

2.4 根际土壤真菌群落分布

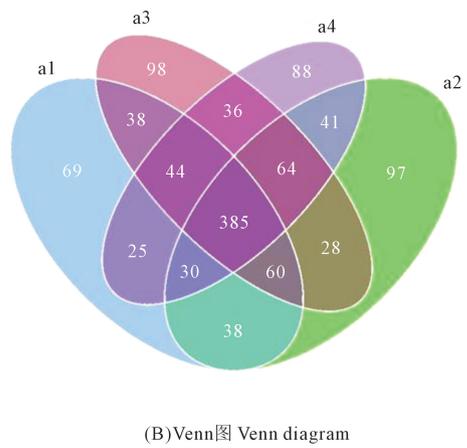
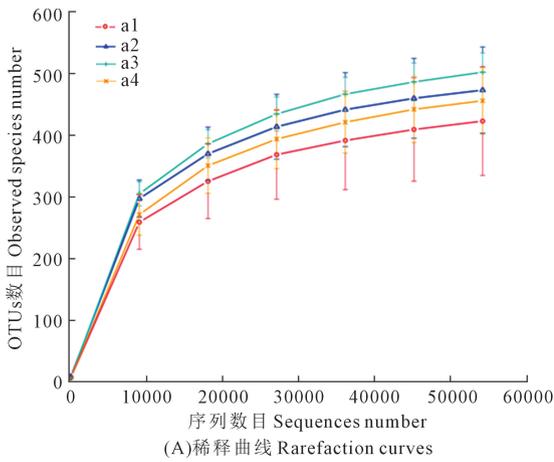
由图 2A 可知,子囊菌门(Ascomycota)(70.40%~93.26%)、毛霉门(Mucoromycota)(0.16%~6.61%)、壶菌门(Chytridiomycota)(0.01%~3.56%)、被孢霉门(Mortierellomycota)(1.36%~3.76%)、担子菌门(Basidiomycota)(0.08%~0.20%)、芽枝霉门(Blastocladiomycota)(0.00%~0.04%)、罗兹菌门(Rozellomycota)(0.01%~0.02%)和球囊菌门(Glomeromycota)(0.00%~0.01%)是红豆草根际土壤真菌群落相对丰度排名前 8 位的真菌门,共占真菌总数的 75.83%~95.51%,其中子囊菌门、毛霉门、壶菌门、被孢霉门为真菌优势菌群。随红豆草种植年限增加,子囊菌门和球囊菌门相对丰度显著增加($P<0.05$);毛霉门、壶菌门和被孢霉门则表现为先增后降($P<0.05$),均在 2 a 生时最大;担子菌门、芽枝霉门和罗兹菌门相对丰度各年限间差异不显著。

由图 2B 可知,各样地根际土壤相对丰度排名前 9 位的真菌属分别为: *Monographella*、镰刀菌属(*Fusarium*)、根霉属(*Rhizopus*)、布氏白粉菌属(*Blumeria*)、外瓶霉属(*Exophiala*)、假裸囊菌属(*Pseudogymnoascus*)、链格孢属(*Alternaria*)、葡萄孢

属(*Botryotrichum*)、*Cladophialophora*, 共占真菌总数的 38.39%~70.71%。其中 *Monographella* 和镰刀菌属占真菌总数的 19.83%~54.86%, 是主要的优势菌属。在属分类水平上,各样地间真菌相对丰度有一定差异。随红豆草种植年限增加, *Monographella* 和假裸囊菌属的相对丰度显著增加($P<0.05$); 镰刀菌属和布氏白粉菌属显著降低($P<0.05$); 葡萄孢属、外瓶霉属、链格孢属、根霉属和 *Cladophialophora* 先增加后降低($P<0.05$), 其中葡萄孢属相对丰度在 3 a 生草地达到最大, 其余属均在 2 a 生草地达到最大。

2.5 根际土壤真菌群落结构与土壤性质的关系

图 3 表明,门水平上, RDA1 和 RDA2 累计贡献率达到 76.71%, 较好地反映出真菌群落与土壤性质之间的相互关系。其中罗兹菌门、被孢霉门、毛霉门、壶菌门与 AP、pH 呈正相关, 与 UA、APA、DHA、CAT 呈负相关; 子囊菌门和芽枝霉门与 4 种酶呈正相关, 与 AP、pH 呈负相关; 担子菌门、球囊菌门与 AK、AN 呈正相关, 与 SOM 呈负相关。置换检验结果显示(表 4), AP 是真菌群落变化的主导因子。



注:图中 a1、a2、a3、a4 分别代表红豆草的种植年限(1、2、3、4 a)。

Note: a1, a2, a3 and a4 in the figure represent different planting year (1, 2, 3, 4 a) of sainfoin.

图 1 根际土壤真菌 DNA 稀释曲线和 Venn 图

Fig.1 Soil fungi DNA rarefaction curves and Venn diagram of rhizosphere soil

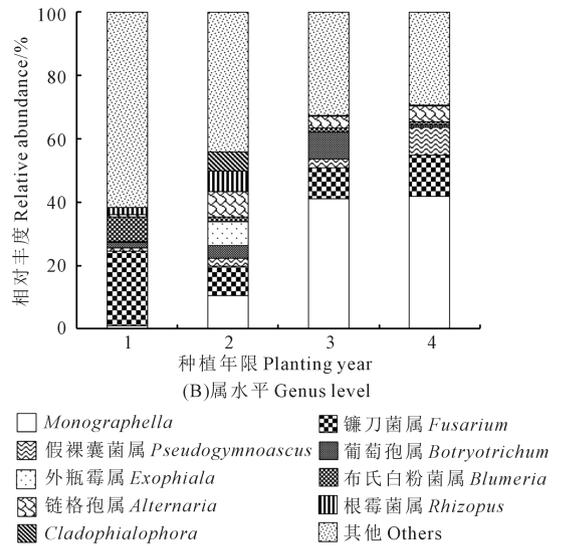
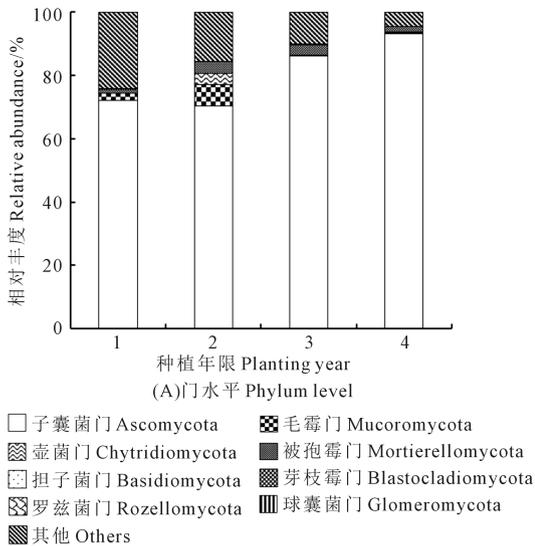


图 2 根际土壤真菌群落在门、属水平下的相对丰度

Fig.2 Relative abundance of rhizosphere soil fungal community at phylum and genus level

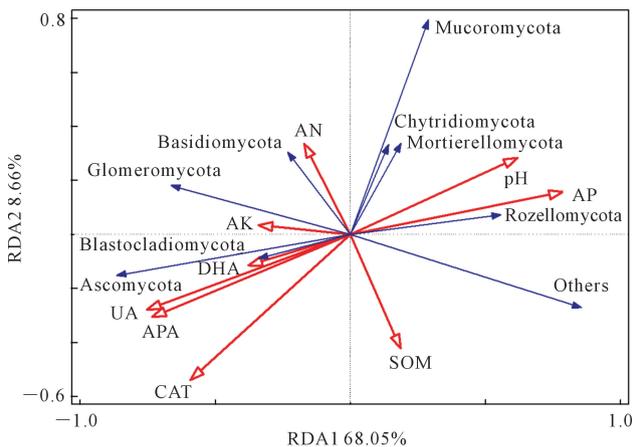


图 3 真菌群落与土壤环境因子冗余分析

Fig.3 Redundancy analysis for fungal community and soil environmental factors

表 4 冗余分析 Monte Carlo 置换检验结果

Table 4 Results of Monte Carlo permutation test

因子 Factor	解释率 Explanation/%	贡献率 Contribution/%	R ²	P
速效磷 AP	42.5	54.3	7.4	0.018
pH	7.4	9.4	1.3	0.308
速效氮 AN	11.6	14.8	2.4	0.120
过氧化氢酶 CAT	4.2	5.4	0.9	0.416
脲酶 UA	4.2	5.3	0.8	0.428
脱氢酶 DHA	1.6	2.0	0.3	0.732
有机质 SOM	2.2	2.8	0.3	0.706
速效钾 AK	4.4	5.6	0.6	0.576
碱性磷酸酶 APA	0.2	0.3	<0.1	0.960

3 讨论

3.1 种植年限对红豆草根系生长的影响

根系形态是描述植物根系随环境变化的重要指标。前人研究表明^[28-29],随生长年限延长,苜蓿的根颈直径、根长度、根表面积、根体积和根系直径等指标均呈增加趋势。本研究显示,随种植年限延长,红豆草的根颈直径、根颈入土深度、侧根直径、主根直径、侧根数和根颈分枝数均逐渐增加,且4 a生显著高于其他年限;根系平均直径、根体积、根系总表面积、根尖数和根系总长均表现为先增加后降低,除根尖数在3 a生草地最大外,其余指标均在2 a生草地最高,这可能与植物种类、土壤特性、灌溉及刈割情况等有关^[30]。红豆草为短期多年生牧草,生长第2、3年可形成较高产量,第4年后显著衰退减产。由此可见,强大的根系是红豆草植株高产的生理基础。

3.2 种植年限对红豆草根际土壤化学、生物学性质的影响

土壤肥力是土壤的基本属性,是土壤物理、化学和生物学性质的综合反映。土壤酶参与土壤中的所有生化反应,与土壤理化性质等密切相关,可反映土壤养分转化能力,是体现土壤肥力的有效生物学指标^[31]。本研究发现,1、3 a生红豆草根际土壤SOM含量高于2、4 a生红豆草,这是由于1 a生红豆草的前茬为玉米,在种植期间,人工增施了有机肥和尿素,加之玉米根系腐熟分解,均使表土层的SOM含量增加;土壤pH值随种植年限的增加而减小,这与张文文等^[32]对不同种植年限苜蓿的研究结论一致,说明种植红豆草可以降低土壤pH值,改良盐碱土,且改良效果与种植年限呈正相关。红豆草种植第3年时,根际土壤AK、AN含量最高,说明3 a生红豆草地土壤养分含量最高,4 a后根际土壤SOM、AK、AN降低,土壤有退化趋势,说明生长衰退(4 a后红豆草产量下降)与土壤肥力衰退同时发生。与根际土壤碳、氮表现不同的是,根际土壤AP含量随红豆草种植年限延长而降低,这可能是因为除红豆草建植当年施入磷肥外,之后未再增施,其生长中所需的磷营养只能从土壤中摄取,使得土壤AP在不断满足红豆草生长过程中被严重消耗^[12]。根际土壤CAT、UA、APA和DHA活性均在4 a生红豆草地最强,这可能是由于种植过程中长期未翻动土壤,促使SOM在土壤表层累积^[33],而SOM是许多土壤酶的底物,故酶活性在4 a生草地最强。

3.3 种植年限对红豆草根际土壤真菌群落的影响

多年生植物通过其根系分泌物对土壤微生物的群落结构和分布产生影响,进而改变微生物的丰富度和多样性^[34]。本研究表明,随红豆草种植年限延长,根际土壤真菌群落丰富度指数(Chao1、ACE)、多样性指数(Shannon-wiener、Simpson指数)先升高后下降,分别在2、3 a生草地最大,之后随着红豆草生长衰败又显著降低。

本研究发现,红豆草地以子囊菌门为优势菌门,其占比达到了70.40%~93.26%;其次为毛霉门、被孢霉门和壶菌门。子囊菌门多数为腐生真菌,主要降解土壤中木质素、纤维素等难降解的有机质^[35]。本研究中连续种植红豆草增加了土壤腐殖质含量,且红豆草能与根瘤菌形成共生关系固氮,所以能为子囊菌的生长提供良好的繁殖条件^[36-37]。被孢霉属是土壤中的有益微生物,能促进植株生长,可补充氮素、溶磷,提高植物的抗病性^[38]。本研究表明,随红豆草种植年限延长,被孢霉属相对丰度先增加后降低;可能是因为随红豆草种植时间延长,土壤养分和地上生物量先增加,为被孢霉属的生长繁殖提供了充足的底物,而种植年限过长使土壤肥力衰退,被孢霉属的丰度也随之下降。本研究中,红豆草根际土壤优势菌属以*Monographella*和镰刀菌属为主,其中镰刀菌属是重要的植物病原菌之一,随红豆草种植年限延长显著下降,说明种植红豆草一定程度上改善了根际土壤环境,提高了土壤的健康状况,江林春等^[39]也发现随着华中五味子种植年限增加,镰刀菌属的生长受到抑制。

环境因子与植物根际土壤真菌群落密切相关。阎海涛等^[40]研究认为土壤溶解性有机碳、pH和含水率是影响褐土真菌群落的主要环境因子;刘师豆等^[41]研究认为,AK、SOM和pH是影响水稻根际土壤真菌群落的主要环境因子。本研究表明,AP是影响红豆草根际沙壤土真菌群落的主要环境因子。可见真菌对环境因子的响应也因植物种类和土壤类型不同有所不同。

4 结论

随红豆草种植年限延长,其根颈直径、根颈入土深度、侧根直径、主根直径、侧根数和根颈分枝数均逐渐增加,且4 a生红豆草上述指标显著高于其他种植年限的红豆草;根系平均直径、根体积、根系总表面积、根尖数和根系总长均表现为先增加后降低。随红豆草种植年限增加,根际土壤K、N营养含量先升高后降低,P营养及pH显著下降,脱氢酶、

过氧化氢酶、脲酶、碱性磷酸酶均显著增加。根际土壤真菌多样性、丰富度随红豆草种植年限延长显著增加,之后随其生长衰败而显著降低。根际土壤优势真菌门为子囊菌门、毛霉门、壶菌门和被孢霉门,优势菌属为 *Monographella* 和镰刀菌属;随种植年限增加,子囊菌门和 *Monographella* 属的相对丰度显著增大,镰刀菌属的相对丰度显著降低,其余指标均表现为先增后降。冗余分析表明,速效磷是影响红豆草根际土壤真菌群落结构的主要环境因子。

参考文献:

- [1] 南丽丽,温素军,魏凡,等. 红豆草新品种的草产量及营养价值研究[J]. 草地学报, 2020, 28(2): 383-388.
NAN L L, WEN S J, WEI F, et al. Studies on the forage yield and nutritional value of new sainfoin lines[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, 28(2): 383-388.
- [2] 于闯,南丽丽,魏永鹏. 不同红豆草材料苗期抗旱性综合评价[J]. 草原与草坪, 2017, 37(4): 74-80.
YU C, NAN L L, WEI Y P. Comprehensive evaluation of drought resistance of different sainfoin materials at seedling stage[J]. *Grassland and Turf*, 2017, 37(4): 74-80.
- [3] 段海霞,罗崇亮,MINHA N,等. 优化作物根系构型,发展生态农业——2017年作物根系与根际互作国际研讨会综述[J]. 干旱地区农业研究, 2019, 37(2): 1-9, 51.
DUAN H X, LUO C L, MINHA N, et al. Optimization of crop roots architecture and eco-agriculture development: a review on the international symposium on crop roots and rhizosphere interactions, 2017[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2019, 37(2): 1-9, 51.
- [4] 肖占文,张俐,刘金荣. 人工种植红豆草对灰棕荒漠土改土效应的研究[J]. 干旱地区农业研究, 2011, 29(3): 199-202.
XIAO Z W, ZHANG L, LIU J R. Effect of planting sainfoin on the improvement of gray-brown desert soil[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2011, 29(3): 199-202.
- [5] 戴雅婷,闫志坚,王慧,等. 油蒿根际土壤微生物数量及其与土壤养分的关系[J]. 中国草地学报, 2012, 34(2): 71-75.
DAI Y T, YAN Z J, WANG H, et al. The relationships between the number of microorganisms in rhizospheric soil of *Artemisia ordosica* and soil nutrients[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2012, 34(2): 71-75.
- [6] LI M Y, WANG J L, YAO T, et al. Bacterial diversity and community structure in the rhizosphere of four halophytes[J]. *Current Microbiology*, 2021, 78(7): 2720-2732.
- [7] AWAD N E, KASSEM H A, HAMED M A, et al. Isolation and characterization of the bioactive metabolites from the soil derived fungus *Trichoderma viride*[J]. *Mycology*, 2018, 9(1): 70-80.
- [8] YANG Y, DOU Y X, HUANG Y M, et al. Links between soil fungal diversity and plant and soil properties on the Loess Plateau[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2198.
- [9] 钱雅丽,王先之,来兴发,等. 多年生牧草种植对苹果园土壤真菌群落特征的影响[J]. 草业学报, 2019, 28(11): 124-132.
QIAN Y L, WANG X Z, LAI X F, et al. Effects of perennial forage on characteristics of the soil fungal community in an apple orchard[J].

Acta Prataculturae Sinica, 2019, 28(11): 124-132.

- [10] 汪其同,高明宇,刘梦玲,等. 基于高通量测序的杨树人工林根际土壤真菌群落结构[J]. 应用生态学报, 2017, 28(4): 1177-1183.
WANG Q T, GAO M Y, LIU M L, et al. Illumina Miseq sequencing-based fungal community of rhizosphere soils along root orders of poplar plantation[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, 28(4): 1177-1183.
- [11] 耿德洲,黄菁华,霍娜,等. 黄土高原半干旱区不同种植年限紫花苜蓿人工草地土壤微生物和线虫群落特征[J]. 应用生态学报, 2020, 31(4): 1365-1377.
GENG D Z, HUANG J H, HUO N, et al. Characteristics of soil microbial and nematode communities under artificial *Medicago sativa* grasslands with different cultivation years in semi-arid region of Loess Plateau, Northwest China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(4): 1365-1377.
- [12] 马欣,罗珠珠,张耀全,等. 黄土高原雨养区不同种植年限紫花苜蓿土壤真菌群落的分布特征[J]. 干旱地区农业研究, 2021, 39(3): 162-170.
MA X, LUO Z Z, ZHANG Y Q, et al. Distribution characteristics of soil fungal community in alfalfa field with different standing ages on the rain-fed Loess Plateau[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2021, 39(3): 162-170.
- [13] 魏少萍,李景峰,梁鹏飞,等. 红豆草种子形态和营养成分遗传变异分析[J]. 草地学报, 2021, 29(11): 2530-2537.
WEI S P, LI J F, LIANG P F, et al. Genetic variation analysis of morphological characters and nutrient contents of sainfoinseed [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(11): 2530-2537.
- [14] 伍国强,李辉,雷彩荣,等. 添加 KCl 对高盐胁迫下红豆草生长及生理特性的影响[J]. 草业学报, 2019, 28(6): 45-55.
WU G Q, LI H, LEI C R, et al. Effects of additional KCl on growth and physiological characteristics of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) under high salt stress[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(6): 45-55.
- [15] 田丰,于闯,付双军,等. 7份红豆草对低温的生理响应及抗寒性评价[J]. 甘肃农业科技, 2018,(10): 21-26.
TIAN F, YU C, FU S J, et al. Physiological response of 7 *Onobrychis viciifolia* on low temperature and its evaluation of cold resistance[J]. *Gansu Agricultural Science and Technology*, 2018,(10): 21-26.
- [16] 陈洁,魏少萍,梁鹏飞,等. 不同红豆草材料耐低磷性评价及种质筛选[J]. 中国草地学报, 2022, 44(3): 72-80.
CHEN J, WEI S P, LIANG P F, et al. Evaluation and screening of sainfoin germplasm with low phosphorus tolerance [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2022, 44(3): 72-80.
- [17] 云娜,石凤翎,王晓龙,等. EMS 诱变对蒙农红豆草出苗和幼苗生长的影响[J]. 中国草地学报, 2014, 36(3): 5-9.
YUN N, SHI F L, WANG X L, et al. Effects of EMS mutagenesis on seed emergence and seedling growth of Mengnong sainfoin[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2014, 36(3): 5-9.
- [18] 陈春艳,马晖玲,董文科,等. 甘肃红豆草 BAN 基因克隆与双标记选择表达载体构建[J]. 核农学报, 2016, 30(10): 1880-1888.
CHEN C Y, MA H L, DONG W K, et al. Cloning of BAN gene and construction of double marking expression vector in *O. viciifolia*

- Scop. cv. Gansu[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2016, 30(10): 1880-1888.
- [19] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 2010: 25-109.
BAO S D. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2010: 25-109.
- [20] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 256-312.
GUAN S Y. Soil enzymes and their research methods[M]. Beijing: Agricultural Press, 1986: 256-312.
- [21] MARQUEZ-ORTIZ J J, JOHNSON L D, BARNES D K, et al. Crown morphology relationships among alfalfa plant introductions and cultivars[J]. Crop Science, 1996, 36(3): 766-770.
- [22] JOHNSON L D, MARQUEZ-ORTIZ J J, LAMB J F S, et al. Root morphology of alfalfa plant introductions and cultivars[J]. Crop Science, 1998, 38(2): 497-502.
- [23] RIVAS M N, BURTON O T, WISE P, et al. A microbiota signature associated with experimental food allergy promotes allergic sensitization and anaphylaxis[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2013, 131(1): 201-212.
- [24] STAT M, POCHON X, FRANKLIN E C, et al. The distribution of the thermally tolerant symbiont lineage (*Symbiodinium* clade D) in corals from Hawaii: correlations with host and the history of ocean thermal stress[J]. Ecology and Evolution, 2013, 3(5): 1317-1329.
- [25] CALLAHAN B J, MCMURDIE P J, ROSEN M J, et al. DADA2: high-resolution sample inference from illumina amplicon data[J]. Nature Methods, 2016, 13(7): 581-583.
- [26] BOKULICH N A, KAEHLER B D, RIDEOUT J R, et al. Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin [J]. Microbiome, 2018, 6(1): 90.
- [27] BOLYEN E, RIDEOUT J R, DILLON M R, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2[J]. Nature Biotechnology, 2019, 37(8): 852-857.
- [28] 郑敏娜, 韩志顺, 梁秀芝, 等. 不同生长年限紫花苜蓿根系形态特征分析[J]. 中国草地学报, 2019, 41(6): 60-66.
ZHENG M N, HAN Z S, LIANG X Z, et al. Analysis of root morphology characteristics of *Medicago sativa* in different growth years [J]. Chinese Journal of Grassland, 2019, 41(6): 60-66.
- [29] 孙启忠, 王宗礼, 徐丽君. 旱区苜蓿[M]. 北京: 科学出版社, 2014: 116-180.
SUN Q Z, WANG Z L, XU L J. Alfalfa in arid regions[M]. Beijing: Science Press, 2014: 116-180.
- [30] 南丽丽, 师尚礼, 张建华. 不同根型苜蓿根系发育能力研究[J]. 草业学报, 2014, 23(2): 117-124.
NAN L L, SHI S L, ZHANG J H. Study on root system development ability of different root-type alfalfa [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2014, 23(2): 117-124.
- [31] 南丽丽, 郁继华, 郭全恩, 等. 苜蓿不同种植年限对土壤化学性状及酶活性的影响[J]. 干旱区资源与环境, 2015, 29(10): 100-105.
NAN L L, YU J H, GUO Q E, et al. Effects of soil chemical property and soil enzyme activity on alfalfa in desert irrigation region of Hexi [J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2015, 29(10): 100-105.
- [32] 张文文, 刘秉儒, 牛宋芳. 引黄灌区不同种植年限紫花苜蓿土壤养分与细菌群落特征研究[J]. 草业学报, 2019, 28(5): 46-54.
ZHANG W W, LIU B R, NIU S F. Correlation between soil nutrient status and the bacterial community composition in alfalfa stands of different ages in the Yellow River irrigation area [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2019, 28(5): 46-54.
- [33] 南丽丽, 师尚礼, 郁继华. 荒漠灌区不同种植年限苜蓿草地土壤微生物特性[J]. 草地学报, 2016, 24(5): 975-980.
NAN L L, SHI S L, YU J H. Soil microbial properties in alfalfa field with different growing years in arid desert oasis [J]. Acta Agrestia Sinica, 2016, 24(5): 975-980.
- [34] DENNIS P G, MILLER A J, HIRSCH P R. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2010, 72(3): 313-327.
- [35] BEIMFORDE C, FELDBERG K, NYLINDER S, et al. Estimating the Phanerozoic history of the Ascomycota lineages: combining fossil and molecular data [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2014, 78: 386-398.
- [36] WANG X L, JIA Y, LI X G, et al. Effects of land use on soil total and light fraction organic, and microbial biomass C and N in a semi-arid ecosystem of northwest China [J]. Geoderma, 2009, 153(1/2): 285-290.
- [37] 张树萌, 黄懿梅, 倪银霞, 等. 宁南山区人工林草对土壤真菌群落的影响[J]. 中国环境科学, 2018, 38(4): 1449-1458.
ZHANG S M, HUANG Y M, NI Y X, et al. Effects of artificial forest and grass on soil fungal community at southern Ningxia mountain [J]. China Environmental Science, 2018, 38(4): 1449-1458.
- [38] LIAO X G, FANG W G, LIN L C, et al. *Metarhizium robertsii* produces an extracellular invertase (MriNV) that plays a pivotal role in rhizospheric interactions and root colonization [J]. PLOS One, 2013, 8(10): e78118.
- [39] 江林春, 韦洁敏, 白尚尚, 等. 华中五味子根际土壤真菌群落特征研究[J]. 延安大学学报(自然科学版), 2020, 39(4): 15-20.
JIANG L C, WEI J M, BAI S S, et al. Characteristics of rhizosphere soil fungi community of *schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils [J]. Journal of Yanan University (Natural Science Edition), 2020, 39(4): 15-20.
- [40] 阎海涛, 殷金玉, 丁松爽, 等. 生物炭对褐土理化特性及真菌群落结构的影响[J]. 环境科学, 2018, 39(5): 2412-2419.
YAN H T, YIN Q Y, DING S S, et al. Effect of biochar amendment on physicochemical properties and fungal community structures of cinnamon soil [J]. Environmental Science, 2018, 39(5): 2412-2419.
- [41] 刘师豆, 韩耀光, 朱新萍, 等. 棉秆炭调控对碱性镉污染水稻根际土壤真菌群落结构和功能的影响[J]. 环境科学, 2020, 41(8): 3846-3854.
LIU S D, HAN Y G, ZHU X P, et al. Effects of cotton stalk biochar on the structure and function of fungi community in alkaline rhizosphere soil of rice under cadmium pollution [J]. Environmental Science, 2020, 41(8): 3846-3854.