

长期施氮对谷子根系内生真菌群落特征的影响

高小峰^{1,2}, 景航³, 闫本帅², 吴春晓^{1,2}, 王国梁^{1,3}

(1.中国科学院水利部水土保持研究所黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室, 陕西 杨凌 712100; 2.中国科学院大学, 北京 100049; 3.西北农林科技大学水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 为探讨长期施氮对作物运输根和吸收根内生真菌群落特征的影响及其机制。以农田长期定位施肥试验(1995—2019年)为基础,通过高通量测序技术,研究长期5个施氮肥处理(CK、N1、N2、N1P、N2P)。其中CK、N1、N2施氮量分别为0, 55.2, 110.4 kg/hm²)对谷子不同功能根内生真菌群落组成和结构的影响。结果表明:CK处理中吸收根的OTUs数和真菌多样性(shannon指数和Chao 1指数)均显著高于运输根($P < 0.05$)。门水平上,吸收根的Ascomycota和Glomeromycota丰度显著高于运输根($P < 0.05$),但Mortierellomycota和Basidiomycota丰度显著低于运输根($P < 0.05$)。在属水平上,优势菌属Mortierella和Bipolaris在吸收根内的相对丰度显著低于运输根($P < 0.05$),但Fusarium和Minimedusa显著高于运输根($P < 0.05$)。高氮施肥吸收根和运输根的OTUs数、Chao 1指数分别提高了23.62%, 23.87%,其他施肥则相反。施肥运输根的shannon指数提高了7.12%~19.62%,吸收根则相反。施肥吸收根致病菌属(Bipolaris、Fusarium、Magnaportheopsis、Microdochium)的相对丰度分别增加了52.99%, 40.74%, 133.06%, 200.00%,运输根中抗病菌属(Minimedusa)的相对丰度提高了40.16%~97.11%。施肥谷子根系碳、氮、磷含量分别提高了2.33%~11.63%, 13.30%~94.66%, 3.89%~263.92%,氮磷肥施肥处理的影响尤为显著($P < 0.05$)。施肥运输根生物量提高了106.67%~336.41%,吸收根的生物量降低了35.20%~60.20%。长期施肥通过提高土壤速效磷、全磷、可溶性氮和根系碳含量而提高吸收根内生真菌丰度,通过提高根系生物量而降低运输根内生真菌丰度,低氮磷配施肥(N1P)对土壤养分含量及菌群发展影响最大。探明长期施氮肥对黄土丘陵区谷子不同功能根系内生真菌分布格局变化的影响,为作物的高产优质及农田土壤生态环境的良好构建提供理论依据。

关键词: 长期施肥; 氮磷; 运输根; 吸收根; 内生真菌

中图分类号: S718.81; S763.15 文献标识码: A 文章编号: 1009-2242(2021)05-0303-09

DOI: 10.13870/j.cnki.stbcbx.2021.05.041

Effects of Long-term Nitrogen Application on the Community Characteristics of Endophytic Fungi in Millet Roots

GAO Xiaofeng^{1,2}, JING Hang³, YAN Benshuai², WU Chunxiao^{1,2}, WANG Guoliang^{1,3}

(1.State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Agriculture on the Loess Plateau, Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences, Ministry of Water Resources, Yangling, Shaanxi 712100; 2.University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049; 3.Institute of Soil and Water Conservation, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: The purpose of this study was to explore the effect and its mechanism of long-term nitrogen application on the characteristics of endophytic fungi community in crop transport roots and absorbing roots. Based on the field long-term location fertilization experiment (1995—2019), through the high-throughput sequencing technology, the long-term 5 nitrogen fertilizer treatments (CK, N1, N2, N1P, N2P) were studied. Among them, the CK, N1, N2 nitrogen application rates were respectively: 0, 55.2, 110.4 kg/hm²) on the composition and structure of endophytic fungi community in different functional roots of millet. The results showed that the number of OTUs and fungal diversity (shannon index and Chao 1 index) of absorbing roots in CK treatment were significantly higher than those of transporting roots. At the phylum level, the abun-

收稿日期: 2021-04-01

资助项目: 国家自然科学基金项目(K3010217050)

第一作者: 高小峰(1994—), 女, 硕士研究生, 主要从事水土保持和恢复生态研究。E-mail: gaoxiaofeng0111@foxmail.com

通信作者: 王国梁(1971—), 男, 博士, 研究员, 主要从事水土保持及恢复生态研究。E-mail: glwang@nwsuaf.edu.cn

dance of Ascomycota and Glomeromycota of absorbing roots was significantly higher than that of transporting roots, but the abundance of Mortierellomycota and Basidiomycota was significantly lower than that of transporting roots. At the genus level, the relative abundance of the dominant genus *Mortierella* and *Bipolaris* in absorbing roots was significantly lower than that in transporting roots, but *Fusarium* and *Minimedusa* were significantly higher than transporting roots. The number of OTUs and Chao 1 index of absorbing root and transport root of high nitrogen fertilization increased by 23.62%, 23.87%, respectively, while other fertilization was just the opposite. The Shannon index of fertilization and transporting roots increased by 7.12%~19.62%, but the absorbing roots were the opposite. The relative abundance of fertilization-absorbing root pathogenic bacteria (*Bipolaris*, *Fusarium*, *Magnaportheopsis*, *Microdochium*) increased by 52.99%, 40.74%, 133.06%, 200.00%, respectively, and the relative abundance of pathogen-resistant bacteria (*Minimedusa*) in transporting roots increased 40.16%~97.11%. The carbon, nitrogen, and phosphorus contents of the millet root system increased by 2.33%~11.63%, 13.30%~94.66%, 3.89%~263.92%, respectively. The effect of combined application of nitrogen and phosphorus was particularly significant. The biomass of fertilization and transport roots increased by 106.67%~336.41%, and the biomass of absorbing roots was reduced by 35.20%~60.20%. Long-term fertilization increased the abundance of endophytic fungi in absorbing roots by increasing soil available phosphorus, total phosphorus, soluble nitrogen and root carbon content, and reducing the abundance of endophytic fungi in transporting roots by increasing root biomass, and applying phosphorus fertilizer with low nitrogen (N1P) has the greatest impact on the soil nutrient content and the development of the flora. In short, long-term nitrogen application could change root endophytic flora by affecting the soil or root chemical composition, which might lead to the changes in plant survival strategies and ultimately affect farmland ecosystems.

Keywords: long-term fertilization; nitrogen and phosphorus; transport roots; absorbing roots; endophytic fungi

作物根系中的内生真菌是指生活在作物根系中, 而对作物根系并不引起明显病害症状的拥有不同生活策略的真菌。一方面, 内生真菌能帮助植物获取更多难以利用的无机和有机养分, 促进作物生长发育; 另一方面, 其中的病原真菌会从根系中吸收营养供给自身生长需要。已有研究^[1-4]发现, 施肥对植物根系内生菌有显著影响。3 年连续施氮显著降低水曲柳人工林的菌根真菌侵染率^[1]。王婷^[2]研究发现, 施氮后小麦菌根侵染率提高了 16.8%。低氮和高氮对内生真菌的丰度有不同的影响^[3]。李瑞霞等^[4]研究发现, 低氮施肥 (189 kg/hm²) 显著提高根内 Glomeromycota 丰度, 而高氮施肥 (270 kg/hm²) 显著降低 Glomeromycota 丰度。上述争议可能与施氮水平、测定的微生物指标有关。此外, 关于长期施肥如何通过影响土壤性质、根系化学组分, 进而影响根系内生菌根群落特征的机制也缺乏系统研究。

越来越多的研究^[5-10]发现, 植物根系是一个高度异质性的系统, 不同根序根系在形态、结构、功能和菌根的侵染方面具有显著差异。刘莹等^[5]研究发现, 油松幼苗的不同根系总根长和比表面积显著不同。刘丽娜^[6]研究发现, 水曲柳 < 1 mm 的根系相较于

1~2 mm 根系周转速度更快。虽然相对于乔木和灌木等植物而言, 农作物不同根序根系之间的差异相对较小。但也有研究^[7-8]发现, 农作物根系在形态和功能方面也存在显著差异。邱新强等^[7]研究发现, 冬小麦的不同径级根系的活根长显著不同。李晓龙等^[8]关于玉米的研究表明, 不同径级根系的细根生物量、根长、根表面积均存在显著差异。苗原等^[9]和冯欢等^[10]研究发现, 菌根真菌的侵染和根系的形态与结构相关。根系形态和生理功能是显著相关的, 吸收根是负责养分资源吸收, 而运输根是负责养分资源运输和贮存^[11]。但不同根序根系中内生菌的群落组成是否存在差异缺乏系统研究, 其对施肥的响应还不清楚。

先前的研究关于长期施肥如何影响根系内生菌群特征的机制缺乏系统研究, 关于施肥对不同根序根系中内生菌的群落组成是否存在差异尚不清楚。因此, 本研究以长期定位研究为基础, 利用 ITS rRNA 高通量测序技术, 系统的研究长期施肥条件下中国黄土高原地区农田谷子吸收根和运输根内生真菌的变化, 说明长期施氮肥对黄土丘陵区谷子不同功能根系内生真菌分布格局变化的影响, 为作物的高产优质及

农田土壤生态环境的良好构建提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地点

长期定位试验田位于中国科学院安塞水土保持综合试验站(35°14'N, 107°41'E)。试验区作为典型的旱作农业区,属温带季风气候,海拔1200 m,年均降水量530 mm,年均气温8.8℃,无霜期160天。试验区土壤类型为黄绵土,典型农作物为谷子和糜子,当季作物为谷子。试验开始(1995年)前耕层土壤有机碳、全氮、全磷含量分别为3.57, 2.41, 1.33 g/kg,有效磷、速效钾、缓效钾含量分别为19.00, 67.00, 708.00 mg/kg, pH为8.51。

1.2 试验设计

长期定位施肥试验开始于1995年,共5个施肥处理,随机区组设计,每个处理4个小区重复($n=4$),每个小区面积为3 m×7 m,坡度15°,投影面积20 m²。5个施肥处理包括:不施肥(CK)、低氮施肥(N1), 55.2 kg/hm²、高氮施肥(N2), 110.4 kg/hm²、低氮配施磷肥(N1P), 施P量为90 kg/hm²、高氮配施磷肥(N2P)。氮肥为尿素,磷肥为过磷酸钙,磷肥做种肥一次施入,尿素施总量的20%作种肥,余下80%的尿素在作物拔节期追施。作物种植模式为谷子—糜子—谷子—大豆轮作,一年一熟。

1.3 样品收集

2019年10月谷子收获后,利用土钻分别按“S”形五点采样法在每个小区中采集5个点的表层(0—20 cm)土壤混匀,将土壤中的杂质去除后,用于土壤基本理化指标测定。选取10株形态相似的谷子,根系按功能法分为运输根、吸收根,一部分用于测根系内生真菌,剩余部分烘干测定根系碳氮磷元素含量。将传统的细根(直径≤2 mm)区分为吸收根和运输根,吸收根由低级根组成,负责资源吸收的1,2级根系;运输根由高级根组成,是负责运输与存储养分资源的3,4级根系。

1.4 样品分析

土壤理化性质和根系碳、氮、磷元素含量的测定方法参照鲍士旦^[12]方法进行测定。全碳采用重铬酸钾容量—外加热法测定,全磷采用H₂SO₄—H₂O₂消解—钼锑抗分光光度法测定,全氮采用全自动凯氏定氮仪测定。易溶解的有机碳(DOC)和氮(DON)用蒸馏水浸提法测定。土壤速效磷(SAP)采用分光光度计测定,有机碳采用TOC仪灼烧法测定。土壤含水量(WC)采用烘干法测定。

1.5 样品DNA提取和PCR扩增

根据E. Z. N. A. B soil试剂盒(Omega Bio-tek,

Norcross, GA, U.S.)说明书提取总DNA,用Nano-Drop2000检测DNA浓度和纯度,用1.0%琼脂糖凝胶电泳检测DNA提取的质量。对真菌ITS1区进行PCR扩增,合成带有barcode的特异引物。本研究真菌的引物为ITS1F(5'-CTGGTCATT-TAGAGGAAGTAA-3')和ITS2R(5'-GCT-GCGTTCTTCATCGATGC-3')。PCR反应体系(20 μL)为:10×Buffer 2 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μL, 正反向引物(5 μmol/L)各0.8 μL, Q5 DNA聚合酶(2 U/μL) 0.2 μL, BSA 0.2 μL, DNA模板(20 ng/μL) 1 μL, ddH₂O 13 μL。使用ABI GeneAmp © 9700型进行PCR扩增,反应条件为:95℃预变性3 min, 27个循环(95℃变性30 s, 55℃退火30 s, 72℃延伸30 s),最后72℃延伸10 min。每个样品3个重复扩增,然后将其用2.0%琼脂糖凝胶电泳检测,用Axy Prep DNA Gel Extraction Kit(Axygen Biosciences, Union City, CA, US)纯化合并,将样品送至Illumina MiSeq平台进行高通量测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。基于内部转录间隔子(ITS)基因通过实时PCR对真菌的丰度进行定量。

1.6 数据分析

原始测序序列使用Fastp软件(<https://github.com/OpenGene/fastp>)质控,使用Flash软件(<https://ccb.jhu.edu/software/FLASH/index.shtml>)拼接,用的Uparse软件(<http://www.drive5.com/uparse/>),根据97%的相似度进行OTU聚类,用RDP Classifier (<https://sourceforge.net/projects/rdp-classifier/>)对每条序列进行物种分类注释,比对Silva数据库(SSU123),设置比对阈值为70%。

采用Mothur 1.3软件分析真菌样品的Alpha多样性(Chao1指数、ACE指数和Shannon指数)。偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)法,使用R语言mixOmics包分析对菌群进行分型。通过Mantel分析来检验环境因子对真菌群落的影响。冗余分析(RDA)基于Bray-Curtis距离算法使用R语言vegan包分析,评估环境变量和内生真菌群落之间的关系。柱状图和折线图制作采用Excel 2013软件。使用SPSS 18.0软件进行方差分析和Duncan多重比较($P<0.05$)来确定环境因子和微生物群落丰度在不同处理之间的差异。

2 结果与分析

2.1 长期施肥对土壤和谷子根系养分含量的影响

由图1可知,长期施肥显著提高了土壤碳、氮、磷养分含量($P<0.05$),增幅为38.5%~77.3%, 18.9%~

36.3%, 0.4%~42.1%。其中,高氮施肥和低氮磷配施肥处理显著提高了土壤碳、氮含量,氮磷肥配施肥显著提高了土壤磷和土壤速效磷含量。施肥显著提高了谷子根系碳、氮、磷含量,增幅为 2.33%~11.63%, 13.30%~94.66%, 3.89%~263.92%, 吸收根的氮含量、磷含量显著高于运输根。

由表 1 可知,施肥运输根生物量提高了 106.67%~336.41%,吸收根的生物量降低了 35.20%~60.20%。吸收根生物量在不施肥条件下高于运输根,在施肥条件下相反。运输根生物量在氮磷配施肥处理显著大于单施氮肥,且在低氮配施肥处理达到最大值。吸收根在氮磷配施肥处理根系生物量显著低于单施氮肥处理。

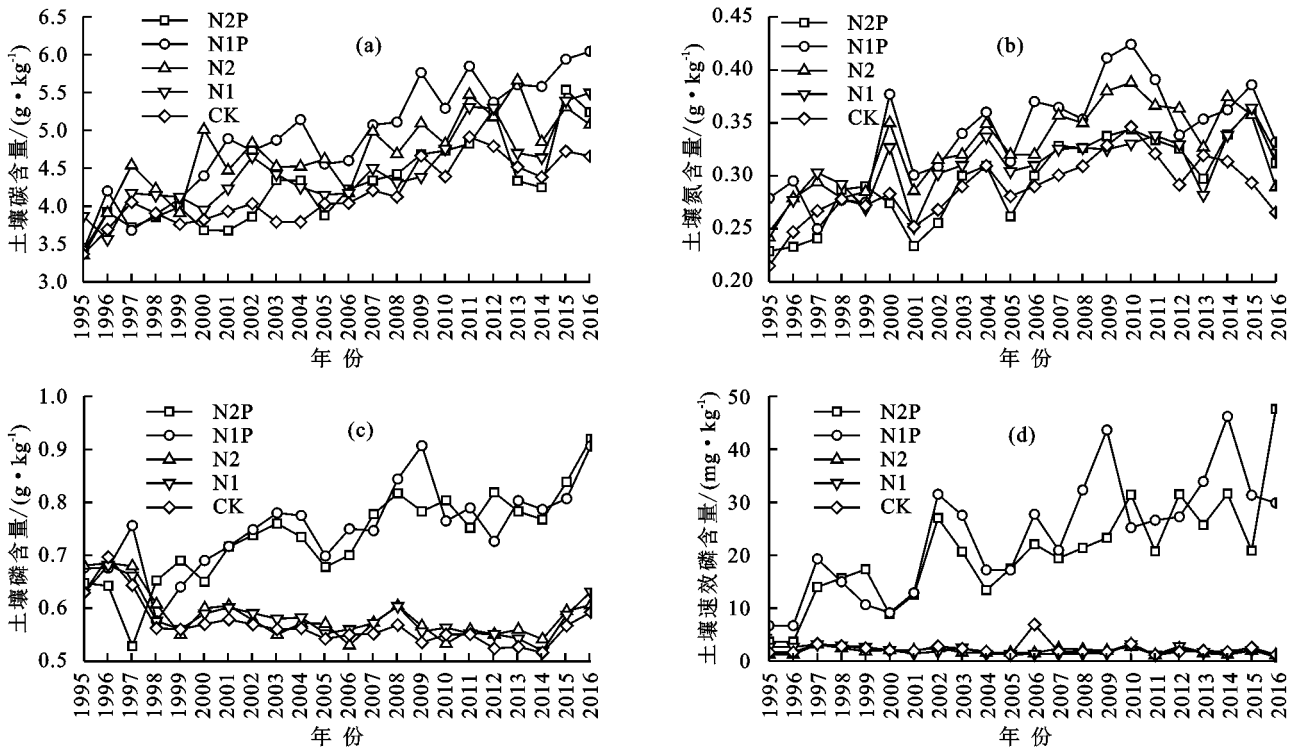


图 1 1995—2016 年长期施肥土壤养分含量的变化

表 1 谷子运输根和吸收根根系组分和生物量

处理	运输根				吸收根			
	C/ (g·kg ⁻¹)	N/ (g·kg ⁻¹)	P/ (mg·kg ⁻¹)	生物量/ (g·m ⁻²)	C/ (g·kg ⁻¹)	N/ (g·kg ⁻¹)	P/ (mg·kg ⁻¹)	生物量/ (g·m ⁻²)
CK	0.43±0.01b	2.62±0.02e	21.84±1.68d	1.95±0.26e	0.43±0.01c	4.36±0.04c	39.09±2.93c	3.04±0.12a
N1	0.44±0.01b	4.42±0.03c	22.69±1.65d	5.49±0.86c	0.45±0.01b	6.09±0.11b	36.96±2.89c	1.70±0.10bc
N2	0.43±0.01b	5.10±0.08a	27.94±1.27c	4.03±0.70d	0.47±0.02a	6.64±0.37a	36.76±2.59c	1.97±0.13b
N1P	0.48±0.02a	4.08±0.05d	79.48±0.51a	8.51±0.74a	0.46±0.01b	4.94±0.39c	83.93±7.98b	1.51±0.38bc
N2P	0.46±0.01a	4.77±0.03b	65.63±1.13b	7.23±0.49b	0.48±0.02a	6.19±0.55b	98.80±3.36a	1.60±0.27c

注:表中数据为平均值±标准差;同列不同小写字母表示施肥处理间差异显著(P<0.05)。下同。

2.2 长期施肥对谷子不同功能根内生真菌多样性和丰度的影响

由图 2 可知,第 1 轴 (COMP1) 对不同功能根内生真菌变化的贡献率分别为 11.01%, 8.82%, 第 2 轴 (COMP2) 对不同功能根内生真菌变化的贡献率分别为 6.44%, 7.74%。COMP1 和 COMP2 分别代表总变量的 17.45%, 16.56%。长期施肥对谷子根内生真菌群落产生显著影响,在运输根和吸收根中均表现为 N1P、N2P 处理与 N2 处理沿第 1 轴分开,与 N1、CK 处理沿第 2 轴分开,与 CK 相比,低 N 施肥对运输根和吸收根内生真菌无显著差异,高 N 施肥和平衡施肥对运输根和吸收根的内生真菌群落有显著影响,且影响不同。

内生真菌群落有显著影响,且影响不同。

由图 3 可知,不施肥条件下,吸收根的 OTUs 数和真菌 α 多样性均显著高于运输根。对于运输根而言,长期施肥处理提高了真菌 shannon 指数。长期施肥对吸收根和运输根丰富度指数影响作用相同,除高氮施肥处理外,长期施肥降低了真菌群落的 Chao 1 指数,OTUs 数在不同施肥处理表现和 Chao 1 指数一致。由图 4 可知,优势菌门是 Ascomycota, Glomeromycota, Mortierellomycota, Basidiomycota 和 Chytridiomycota, 优势菌属是 *Mortierella*, *Bipolaris*, *Fusarium*, *Minimedusa*, *Cladosporium*, *Magnaportheopsis*, *Microdochium*。施氮肥显著

提高了运输根中 Basidiomycota 和 Glomeromycota 相对丰度,显著降低了 Ascomycota 相对丰度,氮磷肥配施处理表现尤为明显。高氮配施磷肥处理与其它施肥处理相反,显著降低了 Mortierellomycota、Chytridiomycota 的相对丰度。在属水平上,高氮施肥显著提高了 *Bipolaris* 的相对丰度,降低了 *Minimedusa* 的相对丰度,其他施肥处理相反。高氮配施磷肥显著提高了 *Cladosporium* 的相对丰度,降低了 *Mortierella*、*Fusarium* 的相对丰度。整体上,施肥提高了 *Magnaportheopsis* 的相对丰度,*Microdochium* 变化不明显。

低氮施肥和氮磷肥配施降低了吸收根 OTUs 数、真菌 shannon 指数和 Chao 1 指数,根系内生真菌

存在中等多样性(shannon 指数为 3~5)。高氮施肥真菌 shannon 指数显著降低,OTUs 和 Chao 1 指数显著提高(图 3)。在门水平上,施肥增加了 Ascomycota 丰度,尤其氮磷肥配施处理最为明显,降低了 Glomeromycota、Basidiomycota 相对丰度。在属水平上,施肥显著提高了 *Bipolaris* 的相对丰度,降低了 *Minimedusa* 的相对丰度;氮磷肥配施处理显著提高了 *Magnaportheopsis*、*Microdochium* 的相对丰度,降低了 *Mortierella* 的相对丰度,单施氮肥处理相反。高氮施肥处理显著提高了 *Fusarium* 的相对丰度,其他施肥处理却正好相反;*Cladosporium* 的相对丰度表现为在低氮施肥和低氮磷配施显著提高了菌属的相对丰度,高氮施肥和高氮磷配施处理恰好相反(图 4)。

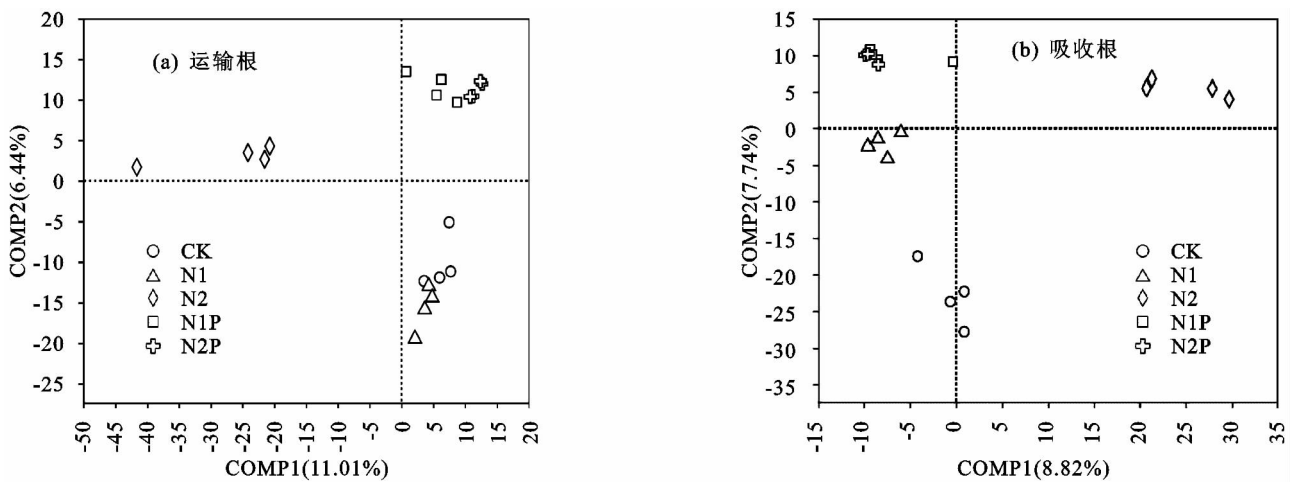
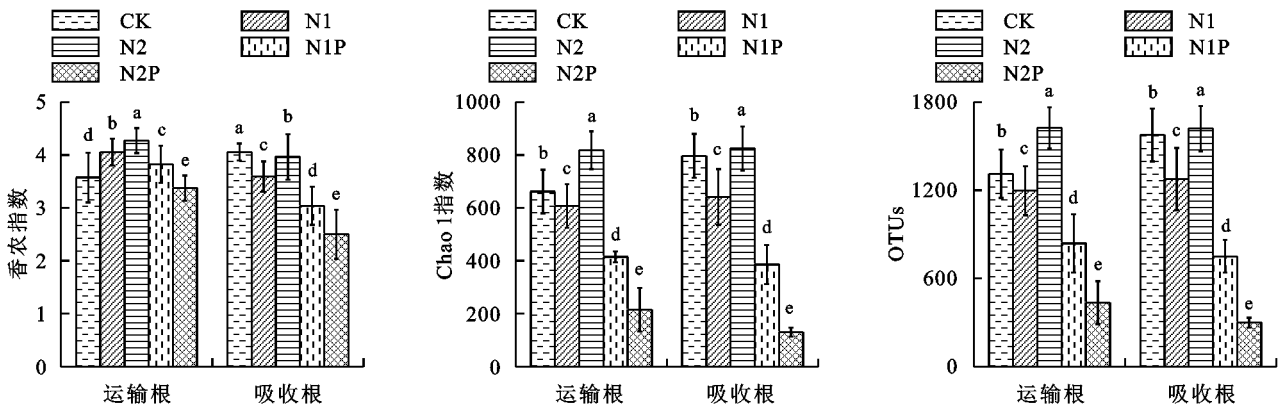


图 2 根系 PLS-DA 排序分析



注:图柱上方不同小写字母表示不同处理间差异显著($P < 0.05$)。

图 3 运输根和吸收根内生真菌群落 α 多样性和 OTUs 数

2.3 不同施肥处理影响根系内生真菌群落的因子

对于运输根而言,真菌丰度和根系氮含量、生物量、土壤全磷、土壤有效磷和土壤含水量显著相关。Ascomycota 的相对丰度与根系生物量、土壤有效磷含量显著负相关($P < 0.05$)。Mortierellomycota 的相对丰度与土壤含水量、Glomeromycota 的相对丰度与土壤全磷、土壤有效磷显著正相关($P < 0.05$)。对于吸收根而言,真菌丰度和根系全碳、生物量、土壤全磷、土壤易溶解氮、土壤有效磷、土壤含水量显著

相关。Ascomycota 的相对丰度与植物全碳、土壤全磷、土壤有效磷、Mortierellomycota 的相对丰度与土壤含水量、Glomeromycota 的相对丰度与根系生物量显著正相关($P < 0.05$)。Ascomycota 的相对丰度与土壤含水量、Mortierellomycota 的相对丰度与土壤全磷、土壤有效磷显著负相关($P < 0.05$)。Basidiomycota 的相对丰度与环境因子无相关性(表 2)。由表 3 可知,在对环境因子与真菌群落进行 Mantel 分析得到验证,吸收根内生真菌群落的相对

丰度与植物全碳、植物全氮、根系生物量、土壤有机碳、土壤全氮、土壤全磷、易溶解碳、易溶解氮、土壤速效磷显著相关($P < 0.05$)。

RDA 分析表明,在吸收根中,第 1 轴和第 2 轴分别解释了长期不同施肥下谷子根内真菌群落变异的 42.33% 和 1.99%;在运输根中,第 1 轴和第 2 轴分别

解释了长期不同施肥下谷子根内真菌群落变异的 30.67% 和 6.47% (图 5)。值得注意的是,植物根系碳含量、土壤全磷含量、易溶解氮含量、土壤速效磷含量是影响吸收根内生菌群落组成最主要的影响因子,植物根系生物量是影响运输根内生菌群落结构组成最主要的影响因子(图 5 和表 4)。

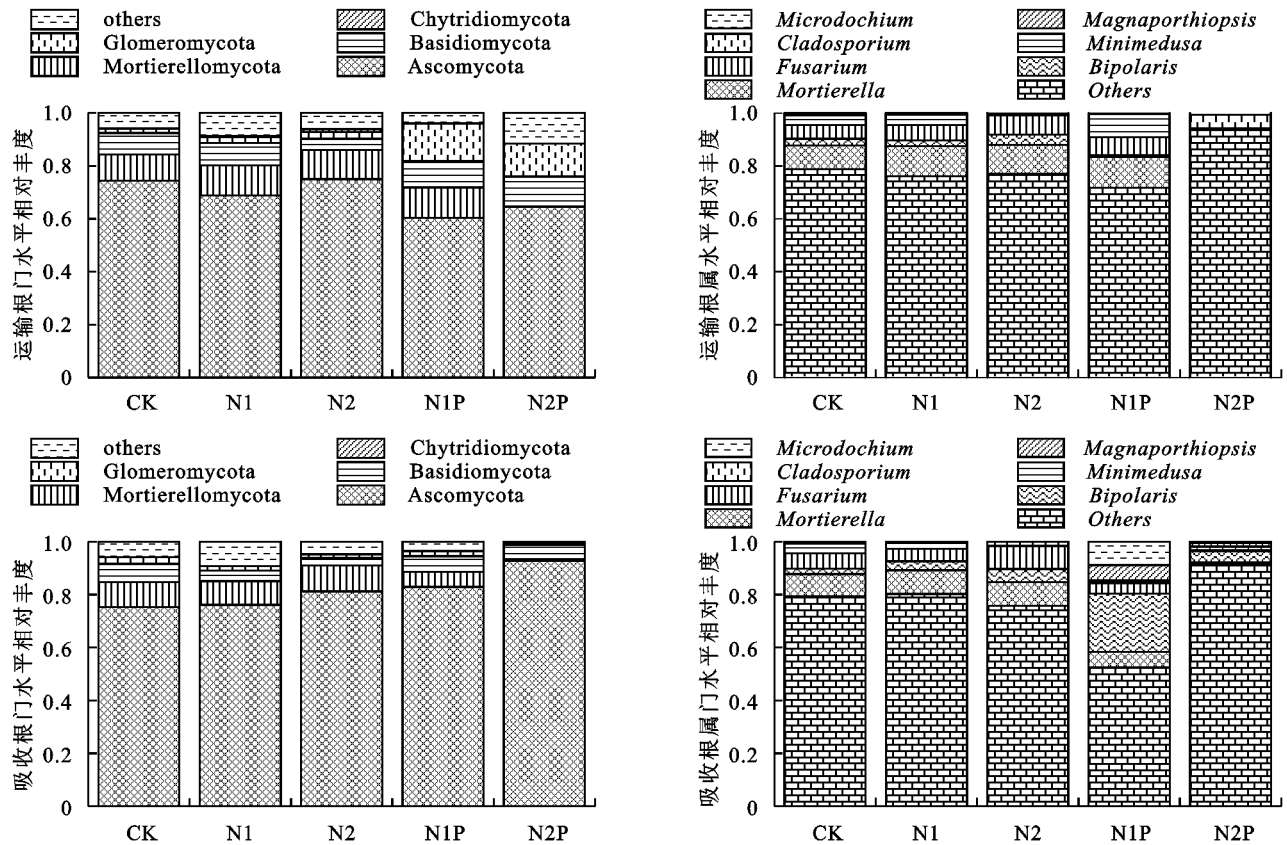


图 4 不同功能根系内生真菌群落丰度

表 2 不同功能根系内生真菌与影响因子的相关性关系

不同功能根系	真菌门	RB	WC	SOC	TN	TP	DOC	DON	SAP	PTC	PTN
运输根	Ascomycota	-0.49*	0.06	-0.10	-0.03	-0.35	0.33	-0.24	-0.49*	-0.43	-0.25
	Mortierellomycota	-0.16	0.45*	0.14	0.17	-0.36	0.02	-0.4	-0.29	-0.20	-0.14
	Basidiomycota	0.35	-0.27	-0.03	0.33	0.22	-0.14	0.15	0.27	0.19	-0.04
	Glomeromycota	0.32	-0.20	-0.04	-0.04	0.51*	-0.37	0.35	0.55*	0.39	0.11
	unclassified_k_Fungi	0.08	-0.11	0.17	-0.10	0.00	0.14	0.43	0.03	0.10	0.49*
吸收根	Ascomycota	-0.41	-0.60*	-0.08	-0.25	0.52*	-0.18	0.45	0.46*	0.50*	0.02
	Mortierellomycota	0.36	0.53*	0.20	0.24	-0.57*	0.25	-0.45	-0.52*	-0.34	0.02
	Basidiomycota	0.15	-0.04	0.03	0.16	0.02	-0.16	0.29	0.13	-0.02	-0.11
	Glomeromycota	0.49*	0.39	-0.05	0.42	-0.44	0.16	-0.32	-0.21	-0.40	-0.36
	unclassified_k_Fungi	0.25	0.57	0.24	0.32	-0.46*	0.33	-0.46*	-0.41	-0.52*	0.15

注: * 表示 $P < 0.05$; PTC 为谷子根系碳含量; PTN 为谷子根系氮含量; RB 为根系生物量; SOC 为土壤碳含量; TN 为土壤氮含量; TP 为土壤磷含量; DOC 为易溶解碳含量; DON 为易溶解氮含量; SAP 为土壤有效磷含量; WC 为土壤含水量。下同。

表 3 根系内生真菌丰度与影响因子的 Mantel 分析

不同功能根系	RB	WC	SOC	TN	TP	DOC	DON	SAP	PTC	PTN
运输根	0.159	-0.02	0.126	0.131	0.142	-0.017	0.128	N/A	0.166	0.163
吸收根	0.269	N/A	0.256	0.266	0.193	0.199	0.213	0.156	0.229	0.273

注: N/A 表示在 Mantel 分析时无值。

3 讨论

3.1 长期施肥对土壤性质、谷子养分含量和生物量的影响

黄土丘陵区处半干旱地区,土壤氮磷元素均缺乏,氮素、磷素和水分都是影响植物生长发育的重要限制因素。本研究发现,高氮施肥和低氮磷配施肥处理显著提高了土壤碳、氮含量。可能是由于氮素添加直接提高了土壤中可利用的氮、磷含量,促进土壤碳循环,提高了土壤养分的有效性^[13]。同时,土壤碳、

氮、磷含量均在 N1P 处理达到最大值。可能是低施肥量促进土壤净氮矿化作用,尤其在氮素缺乏的土壤,施氮肥显著提高了土壤的潜在氮矿化。但施氮肥量过多造成土壤 pH 降低,会抑制微生物活性,土壤矿化作用和硝化作用下降^[14]。显然,氮磷平衡施肥显著提高了土壤全磷和有效磷含量,但 N2P 施肥略低于 N1P 施肥处理。可能是氮素施入增加了磷素吸收,减氮施肥降低了磷素流失风险,长期施用氮磷肥有助于减轻氮素磷素对谷子生长的限制作用。

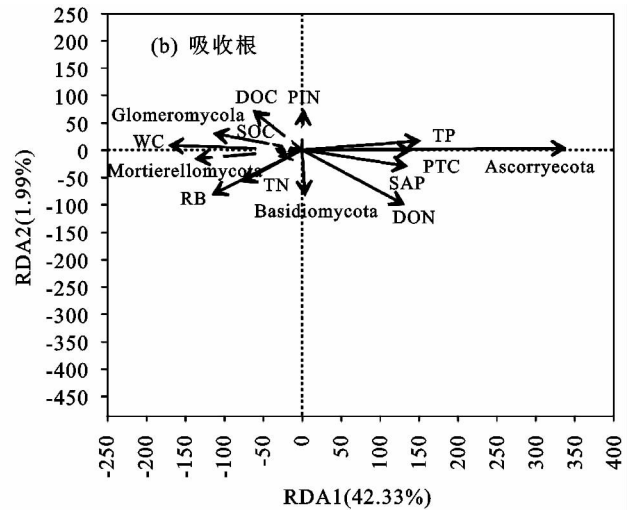
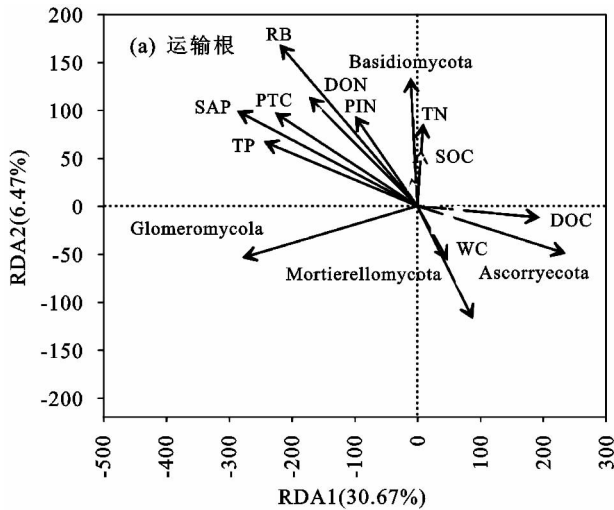


图 5 根系内生真菌影响因子 RDA 分析

表 4 环境因子与根系内生真菌相关显著性检验

不同功能根系	环境因子	RDA1	RDA2	r ²	P
运输根	RB	-0.74	0.67	0.34	0.025
	PTC	0.95	-0.31	0.33	0.035
	TP	0.96	-0.27	0.36	0.023
吸收根	DON	0.89	-0.46	0.50	0.001
	SAP	0.93	-0.36	0.35	0.024

长期施肥显著提高了谷子根系碳、氮和磷含量,其中氮磷配施对根系碳、磷含量的提高最为显著,严正兵等^[15]对拟南芥的研究结果支持了本研究。根系生物量反映了植物对土壤资源有效性和地上光合产物在地下分配情况。本研究发现,长期施肥显著提高了谷子运输根的根系生物量,降低了吸收根的根系生物量。可能是因为根系碳含量的变化规律与细根的功能相适应,施肥增加了土壤可利用的养分含量,对植物细根生产及生物量积累产生影响^[16]。吸收根是承担养分与水分的吸收功能,在其形态构成上对碳需求较低。运输根有较高的运输能力和外部抗逆性能,在形态构成上碳投入也较高^[11]。

3.2 长期施肥对根系内生真菌多样性和丰度的影响

不同施肥处理根系真菌结构会有明显分型^[17]。本研究发现,谷子内真菌菌群结构分为 3 大类:第 1 类是

CK 和 N1 施肥处理,第 2 类是 N2 施肥处理,第 3 类是 N1P 和 N2P 施肥处理。本研究发现,吸收根中 Ascomycota 的丰度显著高于运输根,这可能与吸收根在不同功能根系中负责养分和水分的吸收有关^[11],根系内生 Ascomycota 通过自身分泌的有机酸、碳酸等物质促进土壤有机质的分解,加速宿主根系对所需营养元素的吸收,从而促进作物的生长^[18]。

本研究吸收根中 Ascomycota 丰度随施肥梯度而增加,但施肥显著降低了 Basidiomycota 相对丰度,特别是高氮施肥处理。可能是由于 Ascomycota 作为吸收根的优势菌种,在吸收根中占绝对的主导地位,其主要功能是对养分的吸收,因此对施肥响应敏感。而施肥使得 Basidiomycota 丰度降低,可能是施肥促进谷子生长,根系分泌物抑制其菌群发展,Basidiomycota 诱导病害的可能性被降低^[19]。以往的研究^[19-20]表明,Basidiomycota 主要分解纤维素、木质素等大分子化合物,和锈菌、黑粉菌及植物病害的关系非常密切。本研究发现,施肥显著提高了致病菌的相对丰度,降低了抗病菌的相对丰度。李光宇等^[21]的研究表明,Deuteromycotina 的 *Bipolaris* 易引起小麦根腐病。台佳^[22]研究发现, *Microdochium* 易引起小麦茎基腐病。Pinzari 等^[23]研究发现, *Minimedusa* 通过改变自身分泌物,从而具

有抑制其他真菌的特性。已有研究^[21-23]可以佐证 *Minimedusa* 对致病菌有拮抗作用, *Bipolaris*、*Microdochium* 是明显的致病菌。本研究也发现, *Bipolaris* 对氮肥响应敏感, 施肥显著提高了其丰度, 同时也提高了谷子根系致病的可能性。致病菌属 *Magnaportheopsis*、*Microdochium* 对氮磷肥配施响应明显。Zygomycotina 中 *Mortierella* 对单施氮肥响应明显, 其对化合物有生物转化作用。 *Minimedusa* 是 Basidiomycota 的一个新属, 且与病害菌发生拮抗作用, 降低了病害, 施肥显著降低了其丰度, 增加了病害风险。总之, 长期施肥显著提高了吸收根病原菌的丰度, 这将导致作物患病害的风险明显增加。

本研究发现, 氮磷肥配施显著提高了 Basidiomycota 和 Glomeromycota 相对丰度, 显著降低了 Ascomycota 相对丰度。单施氮肥显著提高了内生 Mortierellomycota、Glomeromycota 相对丰度。可能是氮磷肥配施处理中运输根根系碳含量显著高于其他处理, 为 Glomeromycota 和 Basidiomycota 中菌群的发展提供了更好的营养和生长发育条件^[15-16]。Ascomycota 多数与养分吸收相关, 故而运输根的 Ascomycota 丰度相对减少。本研究发现, 施肥降低了运输根内致病菌 *Bipolaris* 的丰度, 提高了抗病菌 *Minimedusa* 的相对丰度, 特别是低氮磷配施肥处理, 这与吸收根明显不同。原因可能是相较于吸收根, 运输根益生菌产生更多的抗病化合物^[23], 导致病害菌减少, 特别是低氮磷配施肥处理表现最明显。同一菌属对不同施肥和不同功能根系的响应有很大区别。从菌属丰度变化可以看出, 根系内生真菌对氮磷施肥的水平和类型都有明显的响应。真菌群落的结构和组成变化与施肥有显著关系^[17]。总之, 长期氮磷施肥降低了抗病菌的丰度。

3.3 不同功能根系内生真菌的菌群变化及其影响因子

土壤理化性质与植物根系碳、氮、磷元素含量等因子的变化影响根系内生真菌群落的组成和结构, 但不同因子的调控作用存在显著的差异。可能是因为某些内生菌对氮素的响应更为敏感, 而一些菌群的生长和繁殖对养分的需求则不同^[24]。根系真菌群落结构和多样性的变化反映了农业土壤对某些养分的需求。长期氮磷肥配施可能首先改变土壤有机质的组成, 从而影响真菌的繁殖和组成。已有研究^[25]表明, 土壤有机碳与真菌群落具有显著的相关性, 而可溶性有机碳作为易于被土壤微生物分解和利用的活性有机物, 是微生物的主要利用基质和能源, 对土壤微生物和土壤养分均具有重要影响, 这可能会间接影响根

系内生真菌群落。在本研究中, 土壤理化因子和根系特征因子对根内真菌群落结构有显著影响, 根系碳含量、土壤磷含量、土壤易溶解氮含量、土壤速效磷含量对吸收根真菌群落组成和结构有积极的影响作用。根系生物量对运输根真菌群落组成和结构有负向影响作用, 根系生物量通过影响根系碳含量, 从而影响运输根内生真菌的群落结构, 这与已有研究^[24-25]结果一致。总之, 施肥会改变土壤理化性质, 进而影响根系真菌的组成及丰度。

4 结论

(1) 长期施肥显著提高了谷子根系和土壤养分含量, 其中, 氮磷配施肥对根系碳、磷含量的提高尤为显著。施肥运输根生物量提高了 106.67%~336.41%, 吸收根的生物量降低了 35.20%~60.20%。

(2) 吸收根中的 Ascomycota、Glomeromycota 门及 *Fusarium*、*Minimedusa* 属相对丰度显著高于运输根, Mortierellomycota、Basidiomycota 门及 *Mortierella*、*Bipolaris*、*Cladosporium* 属相对丰度则显著低于运输根。

(3) 施氮肥通过提高根系生物量改变运输根优势菌群结构变化。施肥提高了植物根系碳含量、土壤全磷、速效磷、土壤易溶解氮含量, 从而促进吸收根优势菌群结构变化。施肥增加了吸收根致病菌的相对丰度, 提高了运输根中抗病菌的相对丰度。

参考文献:

- [1] 孙玥, 庄海峰, 贾淑霞, 等. 多年施用氮肥对水曲柳人工林内生菌根真菌侵染及其根尖形态的影响[J]. 林业科学, 2010, 46(9): 50-57.
- [2] 王婷. 两个时期不同小麦品种生长差异及菌根研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- [3] 陈薇, 刘慧, 姜楠, 等. 不同 CO₂ 浓度和氮素处理下内生真菌感染对高羊茅的生理生态影响[J]. 南开大学学报, 2015, 4(1): 43-52.
- [4] 李瑞霞, 霍艳丽, 李洪杰, 等. 氮肥减量对华北夏玉米节根内生真菌群落组成的影响[J]. 农业机械学报, 2018, 49(4): 312-318.
- [5] 刘莹, 王国梁, 刘国彬, 等. 不同分类系统下油松幼苗根系特征的差异与联系[J]. 植物生态学报, 2010, 34(12): 1386-1393.
- [6] 刘丽娜. 水曲柳根系径级和序级结构特性分析[J]. 山西林业科技, 2015, 44(1): 18-23.
- [7] 邱新强, 高阳, 李新强, 等. 黄淮平原冬小麦不同品种根系生长差异[J]. 应用生态学报, 2012, 23(7): 1832-1838.
- [8] 李晓龙, 高聚林, 胡树平, 等. 不同深耕方式对土壤三相比及玉米根系构型的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2015, 33(4): 1-7.

- [9] 苗原,吴会芳,马承恩,等.菌根真菌与吸收根功能性状的关系:研究进展与评述[J].植物生态学报,2013,37(11):1035-1042.
- [10] 冯欢,蒙盼盼,豆青,等.菌根真菌与植物共生营养交换机制研究进展[J].应用生态学报,2019,30(10):3596-3604.
- [11] 张德闪,李洪波,申建波.集约化互作体系植物根系高效获取土壤养分的策略与机制[J].植物营养与肥料学报,2017,23(6):1547-1555.
- [12] 鲍士旦.土壤与农业化学分析[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [13] 刘洋,赵燃,黎妮,等.超级杂交水稻种子内生细菌群落结构及其多样性[J].食品与发酵工业,2016,42(1):31-36.
- [14] 李雪松,Sajjad R,刘占军,等.氮肥及硝化抑制剂配合施用对石灰性土壤二氧化碳释放的影响[J].农业环境科学学报,2017,36(8):1658-1663.
- [15] 严正兵,金南瑛,韩廷申,等.氮磷施肥对拟南芥叶片碳氮磷化学计量特征的影响[J].植物生态学报,2013,37(6):551-557.
- [16] 陈柳娟,钟全林,李宝银,等.翅荚木人工林不同径阶间细根主要功能性状与根际土壤养分的关系[J].应用生态学报,2019,30(11):3627-3634.
- [17] Zhou Y, Li X, Qin J H, et al. Effects of simultaneous infections of endophytic fungi and arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of their shared host grass *Achnatherum sibiricum* under varying N and P supply[J]. Fungal Ecology,2016,20:56-65.
- [18] McCormack M L, Dickie I A, Eissenstat D M, et al. Redefining fine roots improves understanding of below-ground contributions to terrestrial biosphere processes [J].The New Phytologist,2015,207(3):505-518.
- [19] 田晴,高丹美,李慧,等.小麦根系分泌物对西瓜连作土壤真菌群落结构的影响[J].中国农业科学,2020,53(5):167-177.
- [20] Murad N B A, Nor N M I M, Shohaimi S, et al. Genetic diversity and pathogenicity of *Fusarium* species associated with fruit rot disease in banana across Peninsular Malaysia [J]. Journal of Applied Microbiology, 2017,123(6):1553-1546.
- [21] 李光宇,李田田,李洪连,等.豫皖小麦田麦根腐平脐蠕孢交配型基因检测[J].麦类作物学报,2020,40(8):1015-1021.
- [22] 台佳.微结节霉属真菌 *Microdochiummajus* 引起的小麦茎基腐病流行病学研究[D].合肥:安徽农业大学,2019.
- [23] Pinzari F, Reverberi M, Pinar G, et al. Metabolic profiling of *Minimedusa polyspora* (Hotson) Weresub & P.M. LeClair, a cellulolytic fungus isolated from Mediterranean maquis, in southern Italy [J]. Plant Biosystems, 2014,148(2):333-341.
- [24] 郭伟,耿珍珠,陈朝,等.模拟氮沉降增加对长白山红松和水曲柳菌根真菌群落结构及多样性的影响[J].生态环境学报,2018,24(1):10-17.
- [25] 曾欣,刘树元,李朝辉,等.10种湿生植物根际真菌群落参数和土壤肥力的比较[J].植物营养与肥料学报,2015,21(3):815-822.

(上接第302页)

- [18] Yang W D, Wang Z Q, Su G P, et al. Quantitative determination of red-soil erosion by an Eu tracer method [J]. Soil and Tillage Research, 2008,101(1/2):52-56.
- [19] 梁俊捷.气候、地形和土壤性质对我国农田土壤有效钾分布的影响[D].成都:四川农业大学,2018.
- [20] He P, Yang L P, Xu X P, et al. Temporal and spatial variation of soil available potassium in China (1990-2012)[J]. Field Crops Research, 2015,173:49-56.
- [21] 占丽平,李小坤,鲁剑巍,等.土壤钾素运移的影响因素研究进展[J].土壤,2012,44(4):548-553.
- [22] 宇万太,姜子绍,马强,等.施用有机肥对土壤肥力的影响[J].植物营养与肥料学报,2009,15(5):1057-1064.
- [23] 中华人民共和国国家统计局.中国统计年鉴[M].北京:中国统计出版社,2018.
- [24] 刘双安,赵繁斌,刘竹梅,等.洛川县苹果园土壤养分状况调查及对策建议[J].陕西农业科学,2004(4):48-50.
- [25] 张亚丽,吕家珑,金继运,等.施肥和秸秆还田对土壤肥力质量及春小麦品质的影响[J].植物营养与肥料学报,2012,18(2):307-314.