

氮肥减量对华北夏玉米节根内生真菌群落组成的影响

李瑞霞^{1,2} 霍艳丽³ 李洪杰⁴ 王惟帅¹ 张爱平¹ 杨正礼¹

(1. 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081; 2. 河北经贸大学旅游学院, 石家庄 050061;
3. 河北北方学院基础医学院, 张家口 075000; 4. 德州市农业科学研究院, 德州 253015)

摘要: 基于农民习惯施氮,以夏玉米为试验对象,采用高通量测序技术探讨氮肥减量 0% (CK;270 kg/hm²)、-10% (N1;243 kg/hm²)、-20% (N2;216 kg/hm²)和 -30% (N3;189 kg/hm²)对节根内生真菌群落组成的影响。结果表明:氮肥减量 10%~30%对地上节根内生真菌 Chao1 指数影响不显著,而氮肥减量 20%~30%却显著降低地下节根内生真菌丰富度 Chao1 指数;氮肥减量 10%~30%显著提高地上节根内生真菌多样性 Shannon-Wiener 指数,却显著降低地下节根内相应指数。减氮 10%~30%显著提高地上节根内格孢菌目 (Pleosporales) 丰度,显著提高地下节根内子囊菌门 (Ascomycota) 和粪壳菌目 (Sordariales) 丰度,显著降低地下节根内肉座菌目 (Hypocreales) 和炭角菌目 (Xylariales) 丰度。氮肥减量 10%显著提高 2 类节根内球囊菌门 (Glomeromycota) 丰度,而氮肥减量 30% 仅显著提高地下节根球囊菌门丰度。随着氮肥减量比例的增加,与对照的相似系数逐渐降低。相关性分析表明,穗粒数与地上节根内格孢菌目、地下节根内球囊菌门和肉座菌目丰度显著相关,有效穗数与地下节根内粪壳菌目丰度显著相关。经综合比较,减氮 30% 的处理效果优于其他处理,与对照相比,在灌浆期可显著提高地上节根格孢菌目丰度 809.95%;显著提高地下节根内球囊菌门丰度 89.93% 和粪壳菌目丰度 1 319.22%,却显著降低肉座菌目丰度 78.14%。

关键词: 夏玉米; 氮肥减量; 产量; 节根; 内生真菌; 多样性

中图分类号: S153.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2018)04-0312-07

Effect of Nitrogen Fertilizer Reduction on Endophytic Fungal Community Composition of Summer Maize in North China

LI Ruixia^{1,2} HUO Yanli³ LI Hongjie⁴ WANG Weishuai¹ ZHANG Aiping¹ YANG Zhengli¹

(1. Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agriculture Science, Beijing 100081, China
2. College of Tourism, Hebei University of Economics and Business, Shijiazhuang 050061, China
3. College of Basic Medical, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China
4. Dezhou Academy of Agricultural Sciences, Dezhou 253015, China)

Abstract: Aiming to define the effect of nitrogen fertilizer reduction on nodal root endophytic fungal communities of summer maize by using the method of Illumina Miseq high-throughput sequencing. Based on farmers' practice for N fertilization, four treatments, i. e. 270 kg/hm² (CK: 0%), 243 kg/hm² (N1: -10%), 216 kg/hm² (N2: -20%) and 189 kg/hm² (N3: -30%) were applied. The results showed that the effects of N fertilizer amount reduction by 10%~30% on diversity index Chao1 of aboveground nodal roots were not significant, and the amount of N fertilizer reduction by 20%~30% increased significantly Chao1 index of underground nodal roots. The effects of amount of N fertilizer reduction by 10%~30% on the diversity index Shannon-Wiener index of aboveground nodal roots were noticeably increased, while the same index of underground nodal roots were noticeably decreased. N fertilizer amount reduction by 10%~30% increased significantly the abundance of Pleosporales in aboveground nodal roots, and increased significantly the abundance of Ascomycota, Sordariales and decreased significantly the abundance of Hypocreales and Xylariales in underground nodal roots. N fertilizer amount reduction by 10% increased significantly the abundance of Glomeromycota in nodal roots, and N fertilizer

收稿日期: 2017-09-27 修回日期: 2017-11-01

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201503106)和张家口市科学技术研究与发展计划项目(1611051C)

作者简介: 李瑞霞(1981—),女,博士后,河北经贸大学讲师,主要从事土壤碳氮循环利用和根土互作研究,E-mail: Liruixia2109017@163.com

通信作者: 杨正礼(1960—),男,研究员,博士生导师,主要从事农业面源污染控制和清洁生产研究,E-mail: 13811869923@126.com

reduction by 30% only increased significantly the abundance of Glomeromycota of underground nodal roots. With the increase of proportion of nitrogen fertilizer reduction, the similarity coefficient was deceased gradually with CK treatment. The correlation analysis showed that grain number was significantly correlated with the abundance of Pleosporales of aboveground nodal roots, and the abundance of Glomeromycota and Hypocreales of underground nodal roots. Efficient spike number was significantly correlated with the abundance of Sordariales of underground nodal roots. By comprehensive comparison, the effect of amount of nitrogen fertilizer reduction by 30% on nodal root endophytic fungal communities was better than that of other treatments. Compared with CK treatment at the filling stage of summer maize, the abundance of Pleosporales of aboveground nodal roots was significantly increased by 809.95%; and the abundance of Glomeromycota and Sordariales of underground nodal roots was significantly increased, while the abundance of Hypocreales was significantly decreased by 78.14%.

Key words: summer maize; nitrogen fertilizer reduction; yield; nodal root; endophytic fungus; diversity

0 引言

氮素是作物生长发育的主要限制因子,但土壤中过量氮素的存在既会影响氮肥增产效用的发挥、增加氮素的损失,又易引起环境污染^[1]。研究表明,施氮量的 50% 通过挥发、淋溶、径流和反硝化作用进入环境^[2],造成水体富营养化、温室气体排放、土壤退化等严重的环境问题^[3]。华北平原是我国的典型农区,氮肥施用过量问题突出。为了解决作物高产与氮肥大量施用引起的环境污染这一矛盾,如何基于作物高产稳产,提高氮肥利用效率已是亟待解决的问题。

CHEN 等^[4]通过对我国三大粮食作物主产区实施的 153 个田间试验研究表明,在化肥用量不变情况下,我国水稻、小麦、玉米至少还有 30% ~ 50% 的增产潜力。近年来大量田间试验也证实,适量减氮有助于作物稳产高产^[5-8]。PENG 等^[5]研究表明,与农民习惯施肥相比,在植物营养生长阶段减施氮肥总用量的 30% 不仅不会降低产量,反而略有增产,并使氮肥农学利用率翻倍。易琼等^[6]在长江中下游平原研究发现,与当地习惯施肥相比,减氮 20% ~ 30% 时小麦产量没有降低。李录久等^[7]在巢湖流域水稻产区,在施氮量 180 kg/hm²基础上,适当减少氮肥施用量对水稻产量影响不大。董强等^[8]研究表明,3 种减量施氮模式较传统施氮模式施氮量减少 20% 的情况下,玉米产量连续 3 年无显著变化。因此,确定适宜的减氮量有利于发挥作物增产潜力,提高氮肥利用效率,同时降低环境成本,是我国农业面临的巨大挑战,也是改善全球氮平衡的一项重要举措^[9]。

植物内生真菌(Endophytic fungi)是指生活在植物寄主中并度过全部或近乎全部生活周期,而对寄主植物并不引起明显病害的真菌^[10]。植物内生真菌作为一种新型的微生物资源,具有提高宿主抗逆能力(干旱、病虫害和重金属等)以及促进宿主对

氮、磷等元素的吸收和利用^[11-13]。由于根系与土壤接触,其定殖的内生真菌主要来自土壤微生物的侵染。研究表明,氮肥水平能显著影响土壤真菌的多样性和菌群结构组成^[14],特别是能改变丛枝菌根的菌群结构^[15]。由于丛枝菌根真菌能够增加植物-真菌之间的交互作用,可在减少外源施肥的情况下,促进植物生长^[16],为减量施氮提供了可能。

玉米节根分为地上节根(气生根)和地下节根(次生根),由于其分枝多、根毛密、根量大、功能期长,是玉米的主要根系^[17],在抗倒伏、水分和营养物质吸收中起着重要作用^[18]。灌浆期是玉米产量形成的重要时期,受到研究者的普遍重视。目前,关于灌浆期夏玉米节根内生真菌多样性以及不同节根内生真菌多样性对产量的影响机制尚未见报道。因此,本研究基于田间定位试验,研究氮肥减量对夏玉米节根内生真菌多样性的影响,旨在揭示地上和地下节根内生真菌多样性对产量影响的机制,以期建立合理减氮措施,提高氮肥利用效率,为实现农业可持续发展提供科学依据。

1 试验材料与方法

1.1 试验设计

试验地点位于山东省德州市平原县黄河涯镇德州市现代农业科技园试验基地。德州市平原县属暖温带半干旱地区,土壤类型为砂壤土,年平均降水量 547.5 mm,主要集中在 6—8 月,年平均气温 12.9℃,平均无霜期为 206 d,年积温 4 639℃。试验前耕层(0 ~ 20 cm)有机质和碱解氮、有效磷、速效钾质量比分别为 13.17 g/kg 和 26.56、34.27、106 mg/kg,pH 值 8.54。

在常规施肥 270 kg/hm²的基础上,设置 3 个氮肥减量处理,分别为:0% (CK:270 kg/hm²)、- 10% (N1: 243 kg/hm²)、- 20% (N2: 216 kg/hm²) 和 - 30% (N3: 189 kg/hm²),采取随机区组设计,3 次重复,每个小区面积 30 m²,小区间隔 1 m,共计 12

个小区。种植制度为冬小麦-夏玉米轮作,供试作物为夏玉米,品种为鲁宁 184,采用机械播种,行距 60 cm、株距 20 cm。氮肥按照基肥和拔节期追肥 6:4 的比例施入,磷(P_2O_5)和钾(K_2O)分别为 45、60 kg/hm²,作底肥一次性施入。灌水、除草和喷药等措施同常规田间管理。2016 年 6 月 27 日播种,10 月 10 日收获。

1.2 根系取样方法

夏玉米灌浆后期(2016 年 9 月 27 日),在每小区中间部位随机选取植株生长均匀一致的 5 株玉米,割掉地上部位后在距玉米根 10 cm 处四周挖断层面,然后沿每株主根方向垂直向下挖 20 cm 深完整根块,根系样品用清水洗净,然后把茎生节根分为地下节根和地上节根两类,将组织表面的水分用滤纸吸干,浸泡于 1% 次氯酸钠溶液中 50 s,无菌水冲洗 3 次,再浸泡于 75% 乙醇溶液 1 min,用无菌水冲洗 3 次,进行表面消毒灭菌。滤纸吸干后,再剪成 0.5 cm × 0.5 cm 的根段,置于无菌袋并保存于 -80℃ 冰箱备用。根样送至北京奥维森基因科技有限公司,进行基因 DNA 提取、PCR 扩增、荧光定量,并应用 Illumina MiSeq 平台对内生真菌基因 ITS1 进行测序。

1.3 高通量测序方法

高通量测序作为第二代测序技术,能够一次并行对几十万到几百万条 DNA 分子进行序列测序,有助于准确分析环境中微生物群落组成和分布。本研究采用此技术,通过 Illumina MiSeq 平台进行 Paired-end 测序,下机数据经过 QIIME(V1.8.0)软件过滤、拼接、去除嵌合体,再调用 uclust 德尔方法^[19]对优质序列按相似度大于等于 97% 进行 OTU 的聚类,选取每个类最长的序列为代表序列。然后调用 RDP-classifier (Version 2.2, [http:// sourceforge. net/ projects/rdp-classifier/](http://sourceforge.net/projects/rdp-classifier/))数据库对 OTU 代表序列进行物种注释分析,最终得到每个 OTU 分类学信息。对于不符合以上标准的 OTU 归为“未分类真菌类群”。

利用 Mothur 软件(Version 1.31.2)计算内生真

菌 α 多样性指数,其中 Chao1 丰富度指数计算公式为

$$S_{Chao1} = S_{obs} + N_1^2/[2(N_2 + 1)] - N_1N_2/[2(N_2 + 1)^2]$$

式中 S_{obs} ——检测到的所有 OTU 总数

N_1 ——只有 1 条序列的 OTU 数目

N_2 ——只有 2 条序列的 OTU 数目

Shannon - Wiener 多样性指数计算公式为

$$S_{Shannon-Wiener} = - \sum (n_i/N) \ln(n_i/N)$$

式中 n_i ——各分类单元中包含的序列数

N ——所有数列之和

相似性系数采用 Sorenson 指数公式

$$C_s = 2j/(a + b)$$

式中 j ——2 个群落共有物种数

$a、b$ ——群落 A、B 的物种数

1.4 数据分析方法

采用 SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, Version 16.0) 对数据进行单因素方差分析(ANOVA),确定氮肥减量对夏玉米地上和地下节根内生真菌多样性和丰度的影响,采用 Duncan 多重比较法,在 0.05 水平进行差异显著性检验。采用 Pearson 系数分析地上和地下节根内生真菌群落组成与产量及产量构成因素之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 氮肥减量对夏玉米节根内生真菌多样性指数的影响

由表 1 可知,地上和地下节根内生真菌多样性对氮肥减量的响应不同。群落丰富度 Chao1 指数越大,说明群落丰富度越高。在对照、N1 和 N3 处理中地下节根丰富度大于地上节根,N2 处理中地上节根丰富度大于地下节根。Shannon - Wiener 指数越大,说明群落多样性越高。在对照和 N3 两个处理中地下节根 Shannon - Wiener 指数大于地上节根,N1 和 N2 两处理中地上节根 Shannon - Wiener 指数大于地下节根。

在地上节根,氮肥减量对 Chao1 指数影响不显

表 1 不同处理节根内生真菌和土壤真菌多样性指数

Tab.1 Nodal root endophytic fungal and soil fungal diversity index in different treatments

处理	地上节根		地下节根	
	Chao1	Shannon - Wiener	Chao1	Shannon - Wiener
CK	(189.09 ± 31.68) ^{ab}	(2.83 ± 0.27) ^c	(246.18 ± 9.77) ^a	(4.28 ± 0.03) ^a
N1	(192.41 ± 9.86) ^{ab}	(3.87 ± 0.10) ^a	(217.82 ± 12.27) ^{ab}	(3.68 ± 0.02) ^b
N2	(216.43 ± 6.48) ^a	(3.81 ± 0.07) ^a	(191.27 ± 29.42) ^{bc}	(3.67 ± 0.04) ^b
N3	(159.06 ± 7.85) ^b	(3.18 ± 0.20) ^b	(177.20 ± 12.85) ^c	(3.39 ± 0.16) ^c

注:数据形式为平均值 ± 标准差,a、b 和 c 代表不同处理间的差异显著(P < 0.05),下同。

著,其中 N2 处理 Chao1 指数最高,N3 处理 Chao1 指数最低,N2 和 N3 处理之间差异显著;氮肥减量显著增加 Shannon - Wiener 指数,其中 N1、N2 和 N3 处理分别增加 36.75%、34.63% 和 12.37%。在地下节根,与对照相比,Chao1 指数在 N1 处理中略有降低,但未达到显著水平;N2 和 N3 两个处理分别显著降低 22.30% 和 28.02%,Shannon - Wiener 指数显示 N1、N2 和 N3 处理分别显著降低 14.02%、14.25% 和 20.79% (表 1)。

2.2 氮肥减量对夏玉米节根内生真菌群落组成的影响

在门分布水平,除去未鉴定出来的真菌(undentified fungus)外,两类节根内生壶菌门(Chytridiomycota)只出现在 CK、N1 和 N2 处理。子囊菌门、担子菌门(Basidiomycota)、球囊菌门和接合菌门(Zygomycota)4 个门在所有处理中都有分布,其中子囊菌门为优势菌门,在地上节根内相对丰度为 54.15% ~ 78.38%,在地下节根内相对丰度为 91.62% ~ 99.10%。在地上节根内,与对照相比,

N1 处理显著提高球囊菌门 3443.16%,显著降低子囊菌门丰度 15.48%;N3 处理显著提高子囊菌门丰度 13.39% (图 1a)。在地下节根内,N1、N2 和 N3 处理显著提高子囊菌门丰度 36.52%、38.60% 和 30.69%,显著降低担子菌门 86.20%、77.87% 和 93.89%。N1 和 N3 处理分别显著提高球囊菌门丰度 336.30% 和 893.06%,而 N1 和 N2 处理却分别显著降低接合菌门丰度 79.02% 和 91.91% (图 1b)。

在子囊菌门常见目水平,与对照相比,N1、N2 和 N3 处理显著提高地上节根内格孢菌目丰度,分别提高 435.64%、213.89% 和 809.95%;其中 N2 处理显著提高粪壳菌目丰度 766.75%,N3 处理显著降低刺盾炔目丰度 (Chaetothyriales) 27.39% (图 1a)。与对照相比,N1、N2 和 N3 处理显著提高地下节根粪壳菌目 139.16%、532.62%、1 319.22% 和刺盾炔目丰度 335.93%、553.47%、297.83%,显著降低肉座菌目 52.78%、15.13%、78.14% 和炭角菌目丰度 96.74%、98.50%、99.04%,其中 N1 处理还显著提高格孢菌目丰度 1239.23% (图 1b)。

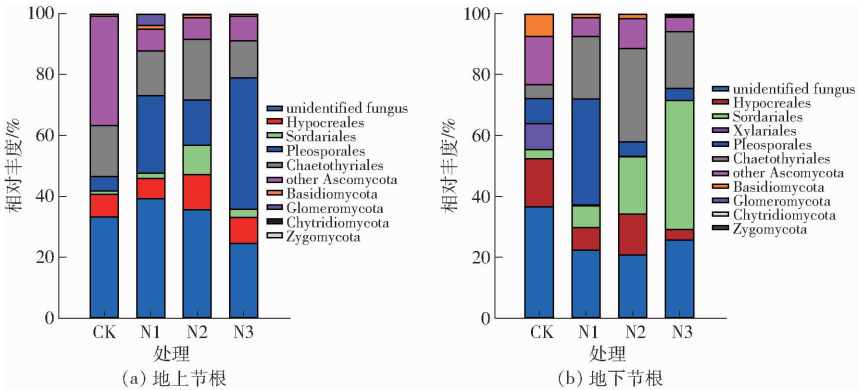


图 1 不同处理节根内生真菌门和目水平(子囊菌门的常见目)相对丰度
Fig.1 Proportions of nodal root endophytic fungal phyla and common fungal orders (1%) within Ascomycota in different treatments

在 OTU 水平,由图 2a 可知,所有处理在地上节根中总计发现 379 OTU,各个处理中都有 123 个相同的 OTU,占总 OTU 比例为 32.45%。其中,CK、N1、N2 和 N3 中分别有 232、254、264 和 210 OTU,特有 OTU 分别有 29、18、32 和 33。与对照相比,N1、N2 和 N3 的相似系数分别为 74.90%、69.35% 和 64.25%。由图 2b 可知,所有处理在地下节根中总计发现 427 OTU,各个处理中都有 140 个相同的 OTU,占总 OTU 比例为 32.79%。CK、N1、N2 和 N3 中分别有 394、268、247 和 257 OTU,独有 OTU 分别为 56、18、13 和 39。与对照相比,N1、N2 和 N3 的相似系数分别为 64.05%、57.72% 和 54.38%。可见,地上节根与对照的相似系数高于地下节根。

2.3 氮肥减量对夏玉米产量和产量构成因素的影响

由表 2 可知,与对照处理相比,氮肥减量 10% ~

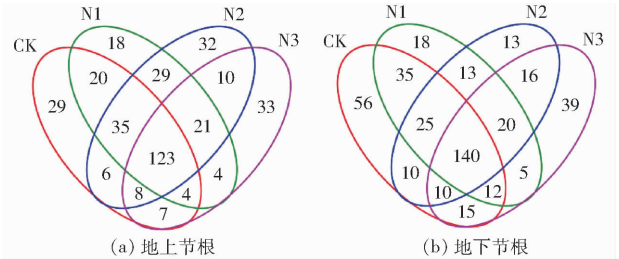


图 2 不同处理节根内生真菌特有和共有 OTU 韦恩图
Fig.2 Venn diagrams of nodal root endophytic fungal showing specific and shared OTU of different treatments

30% 对夏玉米百粒质量、穗粒数和产量影响均不显著。夏玉米有效穗数在氮肥减量 10% 处理有降低趋势,反而在氮肥减量 20% ~ 30% 两个处理中有增加趋势,均与对照处理差异不明显。可见,在华北地区氮肥减量达 30% 时夏玉米产量无明显变化。

表 2 不同处理下夏玉米产量和产量构成因素

Tab. 2 Summer maize yield and its components in different treatments

处理	百粒质量/g	穗粒数/个	有效穗数/(万个·hm ⁻²)	产量/(kg·hm ⁻²)
CK	(29.47 ± 0.40) ^a	(588.00 ± 8.49) ^a	(7.33 ± 0.31) ^{ab}	(6 654.69 ± 149.65) ^a
N1	(27.95 ± 1.72) ^a	(693.00 ± 12.73) ^a	(7.04 ± 0.16) ^b	(6 240.73 ± 858.99) ^a
N2	(30.20 ± 0.52) ^a	(608.00 ± 28.99) ^a	(7.81 ± 0.31) ^a	(6 985.71 ± 75.87) ^a
N3	(31.11 ± 1.71) ^a	(666.33 ± 13.44) ^a	(7.67 ± 0.31) ^a	(6 606.51 ± 380.90) ^a

Pearson 相关性分析表明(表 3),夏玉米百粒质量和产量与两类节根内生真菌种群组成均不相关。穗粒数与地上节根内格孢菌目丰度和地下节根内球囊菌门丰度呈显著正相关,与地下节根内肉座菌目丰度呈显著负相关。有效穗数与地下节根内粪壳菌目丰度呈显著正相关。

表 3 节根内生真菌群落组成与产量的 Pearson 相关系数

Tab. 3 Pearson's correlation coefficient between nodal root fungi community composition and yield

节根类型	分类水平	百粒质量	穗粒数	有效穗数	产量
地上	Ascomycota	0.26	0.04	0.41	-0.04
	Basidiomycota	0.23	0.22	-0.44	0.10
	Glomeromycota	-0.02	0.37	-0.50	-0.23
	Chytridiomycota	-0.16	-0.32	0.45	0.50
	Zygomycota	0.45	0.33	-0.02	0.12
	unidentified	-0.32	-0.16	-0.34	0.10
	Hypocreales	0.04	-0.08	0.31	0.12
	Sordariales	0.05	-0.13	0.51	0.24
	Pleosporales	0.34	0.61 *	0.30	-0.14
	Chaetothyriales	-0.17	-0.41	0.07	0.16
地下	Ascomycota	0.23	0.41	0.23	0.08
	Basidiomycota	-0.15	-0.55	-0.38	0.02
	Glomeromycota	0.23	0.61 *	0.31	-0.27
	Chytridiomycota	0.32	0.16	-0.54	-0.04
	Zygomycota	0.30	-0.20	-0.25	-0.06
	unidentified	-0.26	-0.35	-0.16	-0.10
	Hypocreales	-0.09	-0.67 *	-0.29	0.33
	Sordariales	0.26	0.36	0.61 *	-0.04
	Xylariales	-0.28	-0.51	-0.36	0.17
	Pleosporales	-0.06	0.32	-0.57	-0.19
	Chaetothyriales	0.14	0.28	0.42	0.08

注: * 表示显著相关($P < 0.05$)。

3 讨论

本研究发现,在夏玉米灌浆后期,氮肥减量 10% ~ 30% 对地上节根内生真菌 Chao1 指数影响不显著,氮肥减量 20% ~ 30% 时显著降低地下节根内生真菌丰富度 Chao1 指数;氮肥减量 10% ~ 30% 显著提高地上节根内生真菌多样性 Shannon - Wiener 指数,却显著降低地下节根内生真菌同类指数。以上结果说明,内生真菌多样性 Shannon - Wiener 指

数较丰富度 Chao1 指数敏感,氮肥减量缩小了两类节根之间的差距。这可能是由于玉米灌浆期的上层节根中非结构性碳水化合物含量高于下层节根^[20],有利于地上节根内生真菌的侵染,导致地上节根内生真菌多样性 Shannon - Wiener 指数提高。内生真菌对感染植株的氮代谢和氮积累有显著影响^[21],促进植株对氮素的吸收和高效利用。并有研究表明,在玉米生育后期,提高玉米的上层根系质量,维持其较高、较长的活力是促使玉米获得高产的关键^[22-23]。可见,氮肥减量提高夏玉米灌浆后期的地上节根内生真菌多样性,将有利于玉米获得高产。

根部是内生菌进入植物体内的主要位点^[24],由于根系与土壤接触,其定殖的内生真菌主要来自土壤微生物的侵染。玉米整个生长期,根的内生真菌定殖率呈上升趋势^[25]。在夏玉米灌浆后期,氮肥减量显著提高地上节根内格孢菌目丰度;显著提高地下节根内粪壳菌目和刺盾霉目丰度,却显著降低肉座菌目和炭角菌目丰度。可见,氮肥减量并未显著改变节根内生真菌群落组成,但不同程度地改变了内生真菌类群的丰度,特别是能改变丛枝菌根丰度。在减氮 10% 处理中地上和地下节根内球囊菌门丰度以及减氮 30% 处理中地下节根内球囊菌门丰度显著高于对照。球囊菌门真菌提高节根的根系活力,促进玉米生长发育,有利于提高玉米产量^[26]。因此,节根内球囊菌门真菌丰度有可能作为氮肥合理减量的指示菌。随着氮肥减量比例增加,节根内生真菌群落与对照之间相似性系数逐渐降低,但总体相似性较高(大于 0.50)。地上节根与对照的相似系数高于地下节根,这可能与根系组织内生理条件、组织结构和营养物质等因素不同,从而影响内生真菌的侵染过程,使内生真菌的分布表现出组织偏好性或专一性^[27-28]。夏玉米灌浆后期地下节根开始老化,SUN 等^[28]研究发现,较老的植物组织由于发生表皮降解等变化,有利于内生真菌侵染过程的实现。相关性分析表明,地上节根内格孢菌目和地下节根内球囊菌门真菌有利于穗粒数形成,而地下节根内肉座菌目真菌却抑制穗粒数的形成。地下节根内粪壳菌目真菌促进有效穗数的形成。

本试验仅关注了氮肥减量条件下节根内生真菌

群落组成对产量和产量构成因素的影响,而节根内生真菌还有很多未分类或是未确定种属的物种,它们也受到氮肥减量的影响,但其功能和特点尚不清楚,还有待通过深度测序或利用其他先进手段对微生物进行更细致的分类研究,并结合根系生长^[29]和根际土壤相关指标进行深入探索。适宜的氮肥减量是保障作物高产稳产,维持土壤肥力和减少农业面源污染的关键。近年来大量研究表明,在农民习惯施氮水平下,减氮 20% ~ 30% 对水稻、小麦和玉米产量影响不明显,但均是短期结果。因此,尚需对田间定位试验进行跟踪研究,最终确定适宜的减氮比例。

4 结论

- (1)夏玉米灌浆后期,在氮肥减量 10% ~ 20% 时,提高了地上节根内生真菌 Chao1 和 Shannon - Wiener 指数,氮肥减量 10% ~ 30% 降低了地下节根内生真菌的 Chao1 和 Shannon - Wiener 指数,其中减氮 20% 时地上节根内 Chao1 和 Shannon - Wiener 指数高于地下节根内两指数。
- (2)在门水平,氮肥减量 10% 时显著提高地上节根内球囊菌门和未分类菌门丰度,显著降低子囊菌门丰度;氮肥减量 20% 时各菌门丰度变化不显著;氮肥减量 30% 时显著提高子囊菌门丰度,显著降低未分类菌门丰度。氮肥减量 10% ~ 30% 显著提高地下节根内子囊菌门丰度,显著降低担子菌门

- 和未分类菌门丰度,其中氮肥减量 10% 和 30% 时显著提高球囊菌门丰度,氮肥减量 10% ~ 20% 时显著降低接合菌门丰度,壶菌门真菌在减氮 30% 处理中消失。
- (3)在子囊菌门常见目水平,氮肥减量 10% ~ 30% 显著提高地上节根内格孢菌目丰度,其中减氮 20% 处理显著提高粪壳菌目丰度,显著降低刺盾炱目丰度。氮肥减量 10% ~ 30% 显著提高地下节根内粪壳菌目和刺盾炱目丰度,显著降低肉座菌目和炭角菌目丰度,其中减氮 10% 时还显著提高格孢菌目丰度。在 OTU 水平,氮肥减量 10% ~ 20% 提高了地上节根内 OTU 数目,减量 10% ~ 30% 时降低了地下节根内 OTU 数目。与对照相比,相似系数随着氮肥减量比例的增加而逐渐降低。
- (4)氮肥减量 10% ~ 30% 对夏玉米产量、百粒质量、穗粒数和有效穗数影响均不明显。相关性分析表明,地上节根内格孢菌目真菌和地下节根内球囊菌门真菌、肉座菌目真菌是影响穗粒数的主要因素。地下节根内粪壳菌目真菌是影响有效穗数的主要因素。经综合比较,减氮 30% 处理的效果优于其他处理,与对照相比,在灌浆后期可显著提高地上节根子囊菌门和格孢菌目丰度而显著降低未分类菌门丰度,壶菌门真菌消失;显著提高地下节根内子囊菌门、球囊菌门、粪壳菌目和刺盾炱目丰度而显著降低担子菌门、未分类菌门、肉座菌目和炭角菌目丰度,壶菌门真菌消失。

参 考 文 献

1 朱兆良. 农田中氮肥的损失与对策[J]. 土壤与环境, 2000, 9(1): 1 - 6.
ZHU Zhaoliang. Loss of fertilizer N from plants-soil system and strategies and techniques for its reduction [J]. Soil and Environmental Sciences, 2000, 9(1): 1 - 6. (in Chinese)

2 CAMARGO J A, ALONSO A, SALAMANCA A. Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates[J]. Chemosphere, 2005, 58: 1255 - 1267.

3 CUI Z L, WANG G L, YUE S C, et al. Closing the N-use efficiency gap to achieve food and environmental security [J]. Environmental Science and Technology, 2014, 48: 5780 - 5787.

4 CHEN X P, CUI Z L, ZHANG F S, et al. Producing more grain with lower environmental costs[J]. Nature, 2014, 514: 486 - 489.

5 PENG S B, BURESH R J, HUANG J L, et al. Strategies for overcoming low agronomic nitrogen use efficiency in irrigated rice systems in China [J]. Field Crops Research, 2006, 96: 37 - 47.

6 易琼, 张秀芝, 何萍, 等. 氮肥减施对稻-麦轮作体系作物氮素吸收、利用和土壤氮素平衡的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(5): 1069 - 1077.
YI Qiong, ZHANG Xiuzhi, HE Ping, et al. Effect of reducing N application on crop N uptake, utilization, and soil N balance in rice-wheat rotation system[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2010, 16(5): 1069 - 1077. (in Chinese)

7 李录久, 王家嘉, 李东平, 等. 减量施氮对水稻生长和肥料利用效率的影响[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(1): 99 - 100, 103.
LI Lujiu, WANG Jiajia, LI Dongping, et al. Effect of decreasing nitrogen application rate on rice growth and nitrogen use efficiency[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2013, 41(1): 99 - 100, 103. (in Chinese)

8 董强, 吴得峰, 党廷辉, 等. 黄土高原南部不同减氮模式对春玉米产量及土壤硝态氮残留的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(4): 856 - 863.
DONG Qiang, WU Defeng, DANG Yanhui, et al. Effects of different nitrogen reduction modes on yield of spring maize and nitrate-N residue in soils of the southern Loess Plateau [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2017, 23(4): 856 - 863. (in Chinese)

9 LIU C, WATANABE M, WANG Q. Changes in nitrogen budgets and nitrogen use efficiency in the agroecosystems of the Changjiang River basin between 1980 and 2000[J]. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2008, 80(1): 19 - 37.

- 10 PETRINI O. Fungal endophytes of tree leaves[M]//ANDREWS J H, HIRANO S S. Microbial ecology of leaves. New York: Springer-Vedag,1991:179-197.
- 11 李文超. 中国常见地衣内生真菌多样性及生态分布[D]. 北京: 中国科学院大学, 2008.
LI Wenchao. China's common lichen and ecological distribution of endophytic fungi diversity[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2008. (in Chinese)
- 12 RODRIGUE R J, REDMAN R S, HENSON J M. The role of fungal symbioses in the adaptation of plants to high stress environments[J]. Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change, 2004, 9(3): 261-272.
- 13 AZEVEDO J L, MACCHERONI J W, PEREIRA J O, et al. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2000, 3(1):15-16.
- 14 周晶. 长期施氮对东北黑土微生物及主要氮循环菌群的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2017.
ZHOU Jing. Influence of long nitrogen fertilization on microorganisms and major N-cycling related communities in black soil in northeast China[J]. Beijing: China Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- 15 LIN X, FENG Y, ZHANG H, et al. Long-term balanced fertilization decreased arbuscular mycorrhizal fungal diversity in an arable soil in North China revealed by 454 pyrosequencing[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(11): 5764-5771.
- 16 REID A, GREENE S E. How Microbes can help feed the world microbiology colloquium[M]. Washington DC:Issues, 2012.
- 17 PELLERIN S, MOLLIER A, PLENET D. Phosphorus deficiency affects the rate of emergence and number of maize adventitious nodal roots[J]. Agronomy Journal, 2000, 92(4): 690-697.
- 18 HOCHHOLDINGER F, TUBEMSA R. Genetic and genomic dissection of maize root development and architecture[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2009, 12(2): 172-177.
- 19 CARON D A, COUNTWAY P D, SAVAI P, et al. Defining DNA-based operational taxonomic units for microbial-eukaryote ecology[J]. Applied and Environment Microbiology, 2009, 75(18): 5797-5808.
- 20 刘胜群, 宋凤斌, 周璇, 等. 灌浆期玉米不同节根的某些生理性状分析[J]. 华北农学报, 2010, 25(6):182-186.
LIU Shengqun, SONG Fengbin, ZHOU Xuan, et al. Study physiological characters of adventitious nodal roots of maize during grain filling[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2010,25(6): 182-186. (in Chinese)
- 21 LYONS P C, EVANS J J, BACON C W. Effects of the fungal endophyte *Acremonium coenopialum* on nitrogen accumulation and metabolism in tall Fescue[J]. Plant Physiology, 1990, 92(3): 726-732.
- 22 鄂玉江, 戴俊英, 顾慰连. 玉米根系的生长规律及其与产量关系的研究[J]. 作物学报, 1988,14(2):149-154.
E Yujiang, DAI Junying, GU Weilian. Studies on the relationship between root growth and yield in maize (*Zea Mayz* L.) [J]. Acta Agronomica Sinica, 1988, 14(2): 149-154. (in Chinese)
- 23 管建慧, 郭新宇, 王纪华, 等. 玉米不同部位根系生长发育规律的研究[J]. 玉米科学, 2007,15(6): 82-85, 88.
GUAN Jianhui, GUO Xinyu, WANG Jihua, et al. Study on growth and development rule of different parts of maize root[J]. Journal of Maize Sciences, 2007,15(6): 82-85,88. (in Chinese)
- 24 PAN M J, RADEMAN S, KUNER K, et al. Ultrastructural studies on the colonization of banana tissue and *Fusarium oxysporum* f. sp. Cubense race 4 by the endophytic bacterium *Burkholderia cepacia*[J]. Journal of Phytopathology, 1997, 145:479-486.
- 25 禹乐乐. 玉米内生真菌多样性及其与宿主关系研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2012.
YU Lele. Study on the relationship between the endophytic fungi diversity and its host[D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2012. (in Chinese)
- 26 薛璟花, 莫凤明, 李炯, 等. 氮沉降对外生菌根真菌的影响[J]. 生态学报, 2004, 24(8): 1785-1795.
XUE Jinghua, MO Jiangming, LI Jiong, et al. Effects of nitrogen deposition on ectomycorrhizal fungi[J]. Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(8): 1785-1795. (in Chinese)
- 27 ALY A H, DEBBAB A, PROKSCH P. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 90(6): 1829-1845.
- 28 SUN J Q, GUO L D, ZANG W, et al. Diversity and ecological distribution of endophytic fungi associated with medicinal plants [J]. Science in China Series C: Life Sciences, 2008, 51: 751-759.
- 29 银敏华, 李援农, 李昊, 等. 氮肥运筹对夏玉米根系生长与氮素利用的影响[J/OL]. 农业机械学报, 2016, 47(6):129-138. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20160617&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j. issn. 1000-1298. 2016. 06. 017.
YIN Minhua, LI Yuannong, LI Hao, et al. Effects of nitrogen application rates on root growth and nitrogen use of summer maize [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2016,47(6):129-138. (in Chinese)