

DOI: 10.5846/stxb201907251576

郭平林, 刘波, 张志浩, 荆瑞雪, 张波, 曾凡江. 疏叶骆驼刺与花花柴互作对氮素固定和根际微生物的影响. 生态学报 2020, 40(18): 6632–6643.
Guo P L, Liu B, Zhang Z H, Jing R X, Zhang B, Zeng F J. Effects of interaction between *Alhagi sparsifolia* and *Karelinia caspia* on nitrogen fixation and rhizosphere microorganisms. Acta Ecologica Sinica 2020, 40(18): 6632–6643.

疏叶骆驼刺与花花柴互作对氮素固定和根际微生物的影响

郭平林^{1 2 3 4 5}, 刘波², 张志浩^{1 3 4 5}, 荆瑞雪^{1 3 4 5}, 张波^{1 3 4 5}, 曾凡江^{1 3 4 5,*}

- 1 中国科学院新疆生态与地理研究所荒漠与绿洲生态国家重点实验室, 乌鲁木齐 830011
- 2 山东省水土保持与环境保育重点实验室, 临沂大学资源环境学院, 临沂 276005
- 3 中国科学院新疆生态与地理研究所新疆荒漠植物根系生态与植被修复实验室, 乌鲁木齐 830011
- 4 新疆策勒荒漠草地生态系统国家野外科学观测研究站, 策勒 848300
- 5 中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 植物种间的相互关系通过相关微生物直接或间接的影响来实现。豆科与非豆科植物的互作是研究植物种间关系的理想模型, 但是对其互作关系中氮素固定和微生态过程尚不明确。以塔南荒漠优势植物疏叶骆驼刺(*Alhagi sparsifolia* Shap.) (豆科) 和花花柴(*Karelinia caspia* (Pall.) Less) (菊科) 为研究对象, 研究了在不同生境(自然和小区)下两者互作对氮素固定和根际微生物的影响。结果表明, 在自然和小区两种生存环境下疏叶骆驼刺与花花柴都有氮素转移特征, 并且这种转移特征在自然生境下更为明显。在自然生境中从疏叶骆驼刺转移到花花柴的氮素占花花柴总氮的 50% 左右, 而在小区生境中只占 30% 左右。互作改变了花花柴各组织的化学计量比, 在互作条件下花花柴叶片氮素含量比重增加。此外, 疏叶骆驼刺与花花柴的互作降低了前者的根际细菌群落的 Shannon index, 并且改变了其根际土壤细菌的基因功能。互作对花花柴根际微生物群落没有显著影响, 但在互作条件下疏叶骆驼刺根际土壤细菌中参与氮素转运的相关基因丰度显著高于单独种植, 其中对细根根际土壤细菌的多样性及其基因丰度影响最大。且互作降低了疏叶骆驼刺细根的氮含量。因此, 疏叶骆驼刺细根可能是疏叶骆驼刺和花花柴互作的关键部位。本研究为荒漠植被保护与恢复提供了科学依据。

关键词: 植物互作; 根际土壤微生物; 氮素转移; 细根; 基因功能; 疏叶骆驼刺

Effects of interaction between *Alhagi sparsifolia* and *Karelinia caspia* on nitrogen fixation and rhizosphere microorganisms

GUO Pinglin^{1 2 3 4 5}, LIU Bo², ZHANG Zhihao^{1 3 4 5}, JING Ruixue^{1 3 4 5}, ZHANG Bo^{1 3 4 5}, ZENG Fanjiang^{1 3 4 5,*}

- 1 State Key Laboratory of Desert and Oasis Ecology, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China
- 2 Shandong Provincial Key Laboratory of Water and Soil Conservation and Environmental Protection, College of Resources and Environment, Linyi University, Linyi 276005, China
- 3 Xinjiang Desert Plant Roots Ecology and Vegetation Restoration Laboratory, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China
- 4 Cele National Station of Observation and Research for Desert-Grassland Ecosystems, Cele 848300, China
- 5 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: The interaction between plant species is realized through the direct or indirect influence of related microorganisms. The interaction between leguminosae and non-leguminosae is an ideal model for studying the relationship

基金项目: 国家自然科学基金委-新疆联合基金重点支持项目(U1603233); 国家自然科学基金项目(41977050, 31770638)

收稿日期: 2019-07-25; 网络出版日期: 2020-07-13

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zengfj@ms.xjb.ac.cn

<http://www.ecologica.cn>

between plant species, but nitrogen fixation and microecological processes in the interaction between them are not well understood. In this study, the effects of plant interactions on nitrogen fixation and rhizosphere microorganisms in different habitats—field and plot—were studied, taking *Alhagi sparsifolia* Shap. (Legume) and *Karelinia caspia* (pall.) Less (Asteraceae) as the research objects. The study shows that those two species have nitrogen transfer characteristics in the field or in the plot, and the nitrogen transfer characteristics are more obvious in the field. In field habitat, the nitrogen transferred from *Alhagi sparsifolia* to *Karelinia caspia* accounted for approximate 50% of the total nitrogen in *Karelinia caspia*, while in the plot experiment it only accounted for approximate 30%. The interaction changes the stoichiometric ratio of different tissues of *Karelinia caspia*, and the proportion of nitrogen content in leaves increased under the interaction condition. In addition, the interaction between *Alhagi sparsifolia* and *Karelinia caspia* decreases Shannon index of rhizosphere bacterial community of *Alhagi sparsifolia*, and the interaction changes the gene function of the soil bacteria in the rhizosphere of *Alhagi sparsifolia*. The interaction has no significant effect on rhizosphere microbial community of *Karelinia caspia*. But gene abundance involved in nitrogen transportation in the rhizosphere is significantly higher than that in the single planting, among which the interaction has the greatest effect on the diversity of bacteria and gene function in the fine root rhizosphere of *Alhagi sparsifolia*. Moreover, the nitrogen content of fine roots of *Alhagi sparsifolia* is decreased by the interaction. Therefore, the *Alhagi sparsifolia* fine root could be the crucial part during the interaction between *Alhagi sparsifolia* and *Karelinia caspia*. This study provides a scientific basis for the protection and restoration of desert vegetation.

Key Words: plant interaction; rhizosphere soil microorganism; nitrogen transfer; fine root; gene function; *Alhagi sparsifolia*

植物的种间互作以及植物与土壤间的养分循环直接或间接地影响着土壤微生物的群落结构^[1],合理的种间搭配也可提高互作植物的生物量和对各种资源的利用效率^[2-3]。这种植物之间的相互作用与土壤的性质、土壤微生物和植物的生理可塑性密切相关^[4-7]。植物之间以及植物与土壤微生物群落之间的资源交换是生态系统功能、演替和干扰恢复的基础,是生态系统应对全球变化至关重要的驱动力。

土壤微生物群落演替在调节生态系统发展的各种变化中发挥着重要作用^[8-10]。以往关于植物微生物与生态系统演替相互作用的研究多集中于土壤微生物群落如何受到早期演替物种的制约,以及同一或不同演替阶段的同种或异种植物对土壤微生物后续定殖过程的影响^[11-13]。相关研究已经确定了植物微生物的正反馈和负反馈对驱动植物群落组成中的重要性^[14-16],并发现植物间的相互作用主要表现在土壤细菌群落结构和氮素循环上^[17]。然而,这类研究还需要明确植物之间的相互作用在不同区域、植被之间的差异,以及与氮素转移相关的节点是如何变化的。

植物的根系对于植物间、植物-土壤、植物-微生物的相互关系至关重要^[18]。植物根系具有不同的功能模块^[19],其中细根(1—2级根)的吸收功能较强,粗根(3—5级根)承担着营养运输的功能^[20]。植物细根对环境变换敏感,温度、水分和氮素等都会影响细根的特征^[21-22]。因此,在研究植物之间、植物与土壤微生物之间的相互关系时,有必要考虑根系不同功能模块在其中所发挥的作用。

豆科和非豆科之间的相互作用是研究植物相互作用理想模式^[23]。氮素在株间的转移是豆科和非豆科植物互作的显著特征,氮素的转移量是衡量两者之间互作强度的有效指标。豆科植物将大气中的¹⁴N以生物固氮的方式固定到生物体内。植物体内的¹⁵N/¹⁴N比值越低,表明该植物的固氮能力越强。这些氮素最终以植物凋落物或分泌物的形式在土壤中流动,通过微生物的作用,优先分解轻氮(¹⁴N),而将重氮(¹⁵N)留在土壤中^[24]。而非豆科植物只能通过根系对土壤氮素的吸收来满足其生长发育需要,从而导致其体内的¹⁵N/¹⁴N比值偏高。因此,可以利用¹⁵N/¹⁴N比值来评判植物固氮能力的强弱^[25-26]。 $\delta^{15}\text{N}$ 以非固氮植物的¹⁵N/¹⁴N比值为标准,来计算豆科植物的固氮能力, $\delta^{15}\text{N}$ 值越小固氮能力越强,计算公式如下: $\delta(\%) = (\text{Rs}q/\text{Rst} - 1) \times 1000$,其中Rs_q为样品的¹⁵N/¹⁴N比值,Rs_t为标准植物的¹⁵N/¹⁴N比值。

豆科植物疏叶骆驼刺(*Alhagi sparsifolia* Shap.) 和非豆科植物花花柴(*Karelinia caspia* (Pall.) Less) 是塔克拉玛干沙漠荒漠地区的主要建群种,在生态稳定和防治绿洲沙漠化中起到屏障作用,两者常相伴而生,广泛分布于沙漠-绿洲过渡带上。因此,揭示疏叶骆驼刺和花花柴互作机理对塔克拉玛干沙漠植被保护与恢复具有重要意义。为此,本研究在自然和小区(控制土壤水分)两种试验条件下,拟研究:(1)疏叶骆驼刺对氮素的固定和利用特性;(2)花花柴各器官的氮素利用特性;(3)疏叶骆驼刺和花花柴互作对不同根际土壤微生物的影响。

1 研究区域和方法

1.1 研究区域概况

研究区位于塔克拉玛干沙漠南缘的策勒绿洲外围(地理位置:80°03′24″—82°10′34″E,35°17′55″—39°30′00″N),平均海拔1360 m,年均降雨量34 mm,主要是夏季降雨,年平均气温11.9℃,极端最高气温41.9℃,植被覆盖度低,以荒漠灌丛为主。实验小区已被利用20多年,间断种植过疏叶骆驼刺、红柳、盐生草等植物。在本实验开始前2年(2015—2016年)小区种植疏叶骆驼刺,2016年底清除。

1.2 实验设计

本实验依托策勒国家沙漠研究站,于2017年7月至2018年9月,设置9个4 m×4 m的试验小区,每个小区之间有1.5 m的间隔带,依次为疏叶骆驼刺单作、疏叶骆驼刺与花花柴互作、花花柴单作各3个小区。为了避免1年疏叶骆驼刺幼苗的生物量小和根系不发达对实验结果的影响,我们在疏叶骆驼刺种植1年后种植花花柴。2017年4月底播种(种子采集于距离实验区1 km的荒漠区)于育苗杯中,待长势稳定后,移栽到其中6个小区,行间距1 m×1 m。花花柴采用块根育苗,于2018年3月20日,挖掘荒漠区自然生长的花花柴的块根,切成5 cm的小块,分别栽培6个小区(其中一部分单独种植,另一部分与疏叶骆驼刺种在一起)。4月到9月间,统一管理,充分灌溉,及时清除杂草。

1.3 样品采集与指标测定

1.3.1 植物

2018年9月,采集自然和小区内疏叶骆驼刺和花花柴的健康成熟叶片,低温烘干(60℃),粉碎后使用Mat253同位素比率质谱仪(德国Finnigan公司)测定并计算出 $\delta^{15}\text{N}$ 。在小区实验,移除花花柴的地上部分,将茎和叶分开收集,再分层挖掘采集疏叶骆驼刺和花花柴的根系,直到60 cm土深(自然疏叶骆驼刺和花花柴的根系在3 m以下,无法采集到)。从上到下对根进行编号,未分级的主根记为1号,每分一级,编号加1,最后将编号一样的混合到一起。所有植物样放入75℃的烘箱24 h,经球磨仪粉碎后,使用元素分析仪测定C、N含量。

1.3.2 微生物

在采集根系之前(新鲜挖出来的10—30 cm处的根系),采用抖土法收集疏叶骆驼刺和花花柴根际土,立即放入放有冰袋的保温箱中,带回实验室无菌条件下过2 mm筛,零下20℃保存,用于16S rRNA扩增子测序。DNA提取步骤参照OMEGA试剂盒E.Z.N.ATM Mag-Bind Soil DNA Kit的试剂盒使用说明书(网址链接:<http://omegabiotek.com/store/product/soil-dna-kit/>)。使用Miseq 2×300bp测序平台测序(上海生物工程有限公司)细菌扩增区域为V3—V4,正向引物为341F,序列为CCTACGGGNGGCWGCAG;反向引物为805R,序列为GACTACHVGGGTATCTAATCC;真菌扩增区域为NS1—fung,正向引物NS1,序列为GTAGTCATATGCTTGTCTC;反向引物为Fung,序列为ATTCCCGTTACCCGTTG。将配对序列用FLASH(V1.2.3)进行合并,然后用QIIME^[27]进行质量检测。去除嵌合sequences^[28]后,其余序列使用UPARSE以97%的相似性分配给OTUs^[29]。RDP分类器以80%的置信度为每个OTU的一个代表性序列标注分类信息^[30]。并对细菌的功能在基于GenBank的功能基因数据库(<http://fungene.cme.msu.edu/>)下,采用PICRUSt功能分析,预测细菌功能。

1.3.3 土壤

2018 年 9 月采集自然和小区内的 10—30 cm 处土壤样品,混匀后分成 3 份,一份测定土壤含水量;风干后,一份过 1 mm 的筛后,测定土壤速效磷和全氮含量,剩余部分过 2 mm 的筛,用于测定土壤 pH。采集小区内花花柴和疏叶骆驼刺根系附近 2—5 cm 的土壤。测定土壤的 C、N、P 的含量,以及 pH 和含水量(处理方法同上)。

1.4 数据处理分析

使用 SAS 9.4 软件对不同条件下的土壤性质,植物 C、N 及 $\delta^{15}\text{N}$ 进行统计分析。采用 OriginPro 8 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 氮素固定与利用

表 1 为不同条件下两种植物的 $\delta^{15}\text{N}$ 值比较。从表中可以看出,单独生长的疏叶骆驼刺叶片的 $\delta^{15}\text{N}$ 值均显著高于其与花花柴互作的情况。自然生境下与花花柴互作的骆驼刺叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 值相比单独的降低了 37%,而在小区中只降低了 10%。说明疏叶骆驼刺的固氮能力在互作条件下更强,且在自然生境中促进了疏叶骆驼刺的固氮能力。自然生境与小区生境相比骆驼刺叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 平均降低 30%,互作和单独种植分别增加了 42%和 18%(图 1)。

表 1 不同条件下两种植物的 $\delta^{15}\text{N}$ 值比较
Table 1 $\delta^{15}\text{N}$ values of the two plants under different conditions

植物种类 Species	实验条件 Condition	模式 Pattern	$\delta^{15}\text{N} \text{ ‰}$	植物种类 Species	实验条件 Condition	模式 Pattern	$\delta^{15}\text{N} \text{ ‰}$
疏叶骆驼刺 <i>A. sparsifolia</i>	自然	互作	1.130±0.228c	花花柴 <i>K. caspia</i>	自然	互作	7.703±0.237B
		单独	1.763±0.084b			单独	14.957±2.625A
	小区	互作	1.936±0.053b		小区	互作	2.597±0.008D
		单独	2.143±0.067a		单独	3.885±0.175C	

不同字母表示具有显著差异($P<0.05$)

花花柴与疏叶骆驼刺互作是其获取氮素的另一重要途径,自然条件下花花柴通过与疏叶骆驼刺互作获取氮素更多。无论是在自然或是小区生境下,单独存在的花花柴叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 值均显著高于互作的花花柴叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 值。在自然生境下花花柴叶片的 $\delta^{15}\text{N}$ 值显著高于小区生境中的花花柴叶片的 $\delta^{15}\text{N}$ 值。自然生境下互作花花柴叶片的 $\delta^{15}\text{N}$ 值相比单独的降低了 49%,而在小区中互作花花柴叶片的 $\delta^{15}\text{N}$ 值只降低了 33%。自然生境与小区生境相比 $\delta^{15}\text{N}$ 平均降低了 71%,互作和单独种植分别降低了 66%和 74%(图 1)。以上结果说明花花柴和骆驼刺互作受环境因素和生物因素的共同调节,且环境因素对氮素转移的影响大于生物因素。

2.2 互作对营养元素分配的影响

疏叶骆驼刺和花花柴叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 值的分析结果表明,疏叶骆驼刺将固定下来的部分氮素转移给了花花柴,但是这部分氮素被花花柴吸收后对花花柴的影响还不清楚。

因此对比分析两种种植模式下花花柴不同器官的 C、N 营养元素(图 2)。结果表明花花柴与疏叶骆驼刺互作显著改变了花花柴各个组织的氮素含量。花花柴各部分氮含量依次是根的氮含量<茎的氮含量<叶的氮含量。互作种植的花花柴叶片氮含量显著高于单独种植的;互作种植的花花柴茎的氮含量显著低于单独种植的,两种种植模式下的花花柴根系氮含量没有显著差异。互作花花柴叶片的碳含量显著高于单独的花花柴,但是根系碳含量显著低于单独花花柴根系碳含量。花花柴根:茎:叶的氮含量比值,由单种的 1:2.4:6.6 变为互作的 1:2:7,互作花花柴的碳含量也向叶片有转移趋势。研究结果表明,从疏叶骆驼刺转移到花花柴的氮素影响了花花柴的元素分配,向叶片中运输的氮素增多。

互作降低了疏叶骆驼刺根系的氮含量,促进了碳元素向细根的运输(图 3)。疏叶骆驼刺细根(1—2 级

根)的氮含量最高,显著高于3—5级根的氮含量。互作对疏叶骆驼刺不同级根氮含量都有影响,对4—5级根的氮含量影响最大,互作能够降低疏叶骆驼刺细根20%的氮含量,4—5级根30%以上的氮含量。疏叶骆驼刺单独种植的4—5级根的碳含量显著高于其他根系,互作增加了细根的碳含量,降低了4—5级根的碳含量。疏叶骆驼刺细根的C/N比值低于30,显著低于3—5级根的C/N比值。

2.3 互作对根际细菌群落结构与功能特征的影响

疏叶骆驼刺根际细菌群落主要由变形菌门(Proteobacteria) 61.44%、厚壁菌门(Firmicutes) 9.86%、放线菌(Actinobacteria) 13.64%、拟杆菌门(Bacteroidetes) 4.01%、酸杆菌门(Acidobacteria) 3.04%和芽单胞菌门(Gemmatimonadetes) 1.5%组成。其中变形菌门以 α 、 γ 变形菌为主;花花柴根际细菌群落主要由变形菌门(Proteobacteria) 71.88%、厚壁菌门(Firmicutes) 8.59%、放线菌(Actinobacteria) 10.95%、拟杆菌门(Bacteroidetes) 2.52%、酸杆菌门(Acidobacteria) 1.44%和芽单胞菌门(Gemmatimonadetes) 0.62%组成。

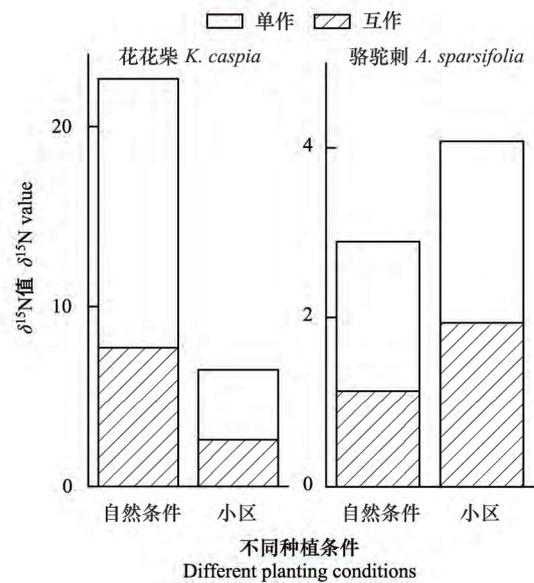


图1 两种植物叶片的 $\delta^{15}\text{N}$ 值变化

Fig.1 Variation of ^{15}N value in the leaves of the two plants

A: 花花柴 *K. caspia*; AP: 骆驼刺, *A. sparsifolia*; D: 单作 Individual; H: 互作 Interactions; F: 自然条件 File; P: 小区 Plot

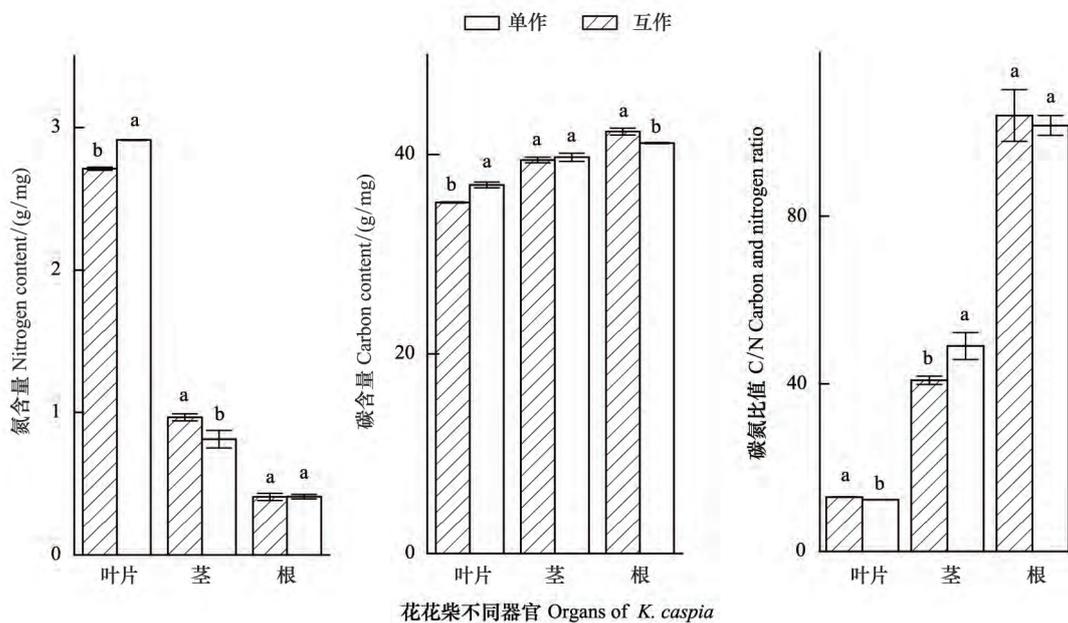


图2 不同种植模式下花花柴各组织的碳氮元素含量变化

Fig.2 Changes of carbon and nitrogen content in various tissues of *K. caspia* under different planting patterns

L: 叶片 Leaf; S: 茎 Stem; R: 根 Root; N: 氮含量 Total nitrogen; C: 碳含量 Carbon content; C/N: 碳氮比值 Carbon and nitrogen ratio; 不同字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)

2.3.1 互作对疏叶骆驼刺和花花柴根际细菌多样性的影响

互作改变了疏叶骆驼刺根际细菌 α 多样性,但是对花花柴根际细菌 α 多样性无显著影响。Simpson指数是指示微生物群落的 α 多样性的,Simpson指数值越大,说明群落多样性越低。疏叶骆驼刺与花花柴互作显

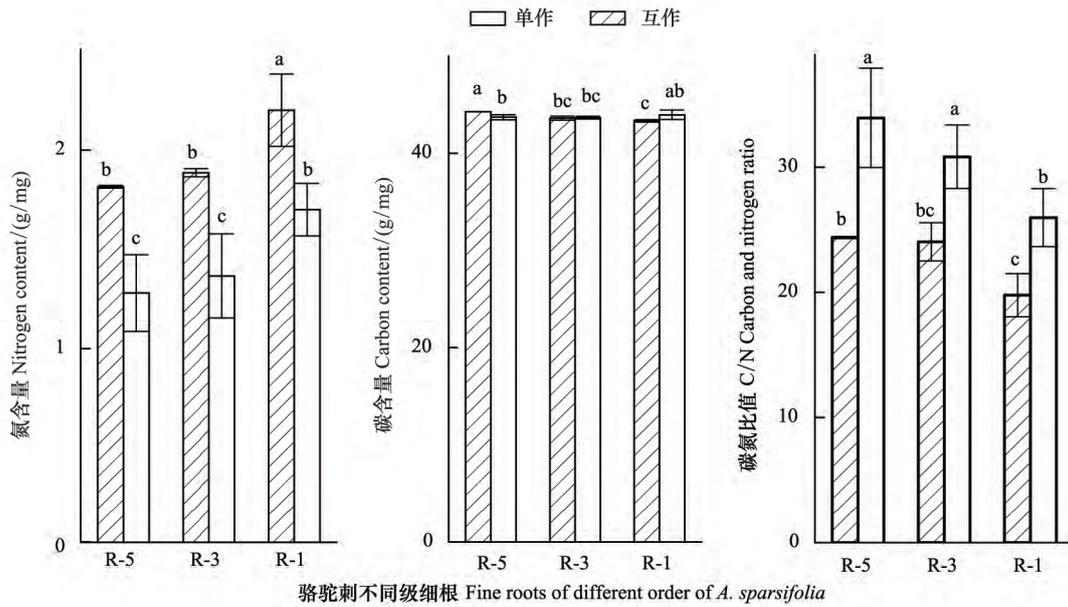


图3 不同种植模式下疏叶骆驼刺根系的碳氮元素含量变化

Fig.3 Changes of carbon and nitrogen content in roots of *A. sparsifolia* under different planting patterns

R-1: 一、二级根, First and second order roots; R-3: 三级根, Third order roots; R-5: 四、五级根, Fourth and fifth order roots

著增加了 Simpson 指数(表 2)。花花柴根际细菌多样性在单种和交互条件下没有显著差异,这可能与花花柴根系较为光滑,土壤不易附着且根毛极少等特性有关。

表 2 不同处理下疏叶骆驼刺和花花柴根际细菌 α 多样性指数

Table 2 Bacterial alpha-diversity index under different treatments of *A. sparsifolia* and *K. acaspia*

多样性指数 Diversity-index	单种骆驼刺 D.AP	交互骆驼刺 H.AP	P 单种花花柴 D.A	交互花花柴 H.A	P	
香依指数 Shannon index	6.13±0.05	5.75±0.02	0.002	4.41±0.87	4.60±1.35	0.842
ACE 指数 ACE index	9868.00±32	9973.50±187	0.377	8024.00±2034	8052.00±753	0.983
Chaol 指数 Chaol index	7212.00±152	7081.00±155	0.419	5647.00±1511	6082.00±855	0.686
覆盖度 Coverage	0.95±0.00	0.95±0.00	0.494	0.96±0.01	0.96±0.01	0.835
辛普森指数 Simpson	0.01±0.00	0.02±0.00	0.033	0.14±0.09	0.16±0.08	0.892

D.AP: 单种骆驼刺 Individual planting *A. sparsifolia*; H.AP: 交互骆驼刺 Interactions planting *A. sparsifolia*; D.A: 单种花花柴 Individual planting *K. acaspia*; H.A: 交互花花柴 Interactions planting *K. acaspia*;

交互改变了疏叶骆驼刺细根(1—2级)根际细菌的 α 多样性,对 4—5 级根没有显著影响。疏叶骆驼刺细根 3 级根和 4—5 级根根际土壤细菌群落多样性指数 Shannon index 逐渐减少,3 级根的物种丰富度指数 ACE index 最高。疏叶骆驼刺与花花柴交互,整体上降低了疏叶骆驼刺不同根级的根际土壤微生物 α 多样性,但是没有改变多样性变化的规律。交互显著降低了细根根际细菌的 Shannon index,增加了细根根际细菌的 Simpson 指数。综上所述,骆驼刺与花花柴交互改变了细根根际土壤细菌群落的 α 多样性指数,对粗根没有显著影响(图 4)。

疏叶骆驼刺根际细菌群落与环境因子的 CCA 分析结果表明(图 5),交互改变了疏叶骆驼刺不同根际细菌群落组成。单独种植的疏叶骆驼刺细菌群落与土壤氮含量和 C/N 比值关系密切;而植物的 C、N 以及 C/N 比值与交互条件下的疏叶骆驼刺根际细菌群落关系密切。不同种植模式下疏叶骆驼刺细根 3 级根和 4—5 级根根际微生物的主导环境因子不同。交互条件下,1—3 级根根际微生物主要与根系的 C/N 比值关联较大,而在单独种植模式下,受土壤的有机碳含量和 C/N 比值的影响较大;粗根与土壤含水率,以及土壤和根

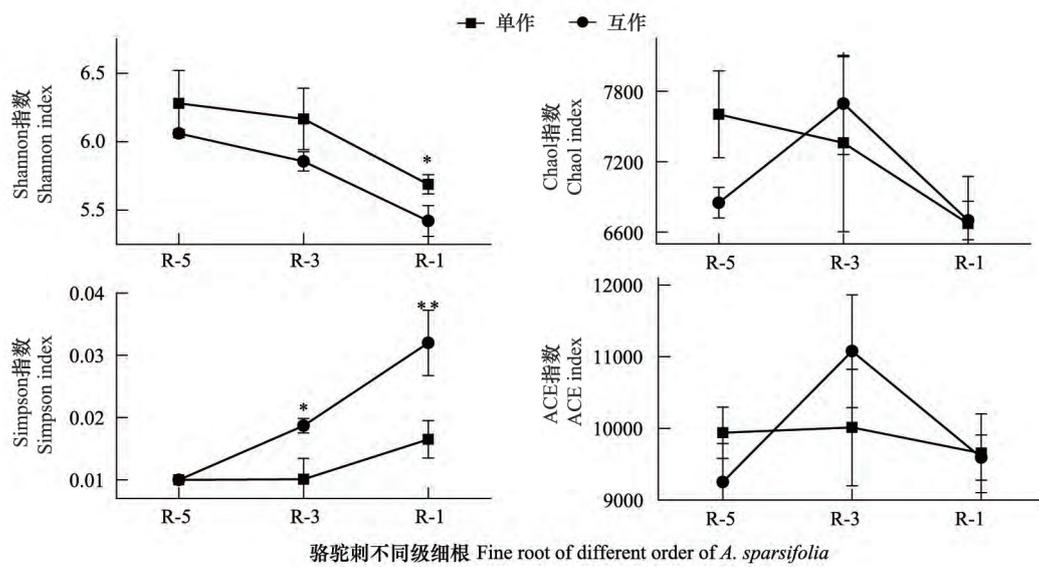


图 4 疏叶骆驼刺根际土壤细菌的 α 多样性

Fig.4 Diversity of bacteria in rhizosphere soil of *A. sparsifolia*

* 表示具有显著差异 ($P < 0.05$) ; ** 表示具有极显著差异 ($P < 0.01$)

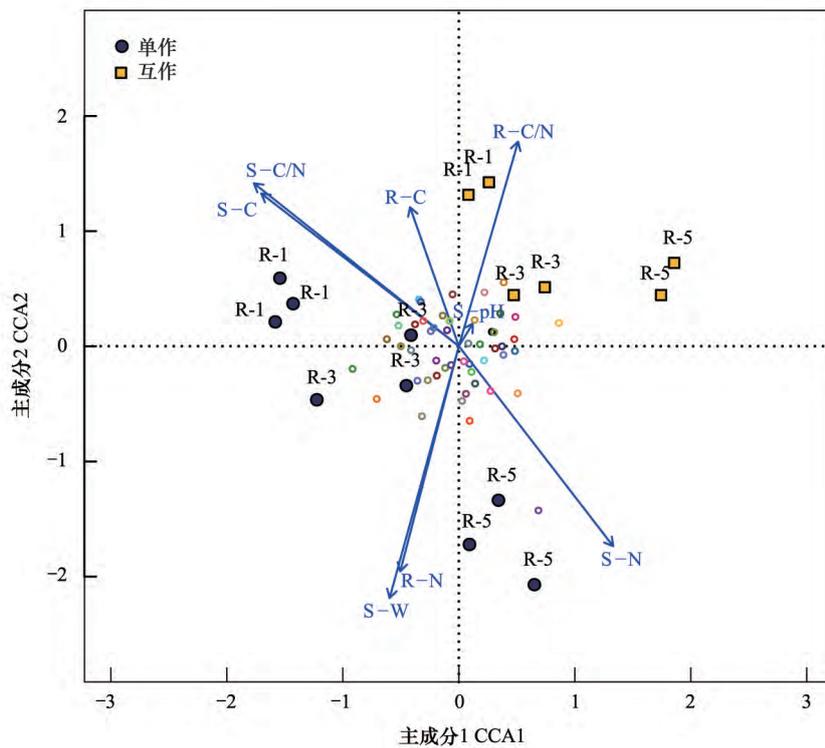


图 5 不同种植模式下疏叶骆驼刺根际细菌群落的 CCA 分析

Fig.5 CCA analysis of rhizosphere bacterial community of *A. sparsifolia* under different planting patterns

S-C: 土壤有机碳 Soil organic carbon; S-N: 土壤全氮 Soil total nitrogen; S-C/N: 土壤碳氮比 Soil carbon and nitrogen ratio; S-W: 土壤含水率 Soil moisture content; S-pH: 土壤 pH Soil pH; R-C: 根系碳含量 Root carbon content; R-N: 根系氮含量 Root nitrogen content; R-C/N: 根系碳氮比 Root carbon and nitrogen ratio

系的氮含量相关性在单种植时更大。

2.3.2 互作对疏叶骆驼刺根际细菌群落基因功能的影响

采用 COG 基因功能注释法预测疏叶骆驼刺根际细菌的基因功能特性, 结果表明互作显著改变了疏叶骆驼刺根际细菌的基因功能。互作与单种的基因功能的差异主要体现在与运输氮素物质相关的基因上, 如氨基酸和碳水化合物转运与代谢的相关基因在互作条件下显著高于单独种植的疏叶骆驼刺; 而单独种植的疏叶骆驼刺的核苷酸转运与代谢相关基因显著高于互作的(图 6)。我们知道以游离氨基酸的形式转移氮素是植物体内转移氮素的重要途径, 在转移氮素的同时, 转运碳水化合物为氮素提供碳骨架。因此, 可以看出与花花柴互作的疏叶骆驼刺根际微生物群落的结构和功能都发生了变化, 向着更有利于运转氮素的微生物群落演替。

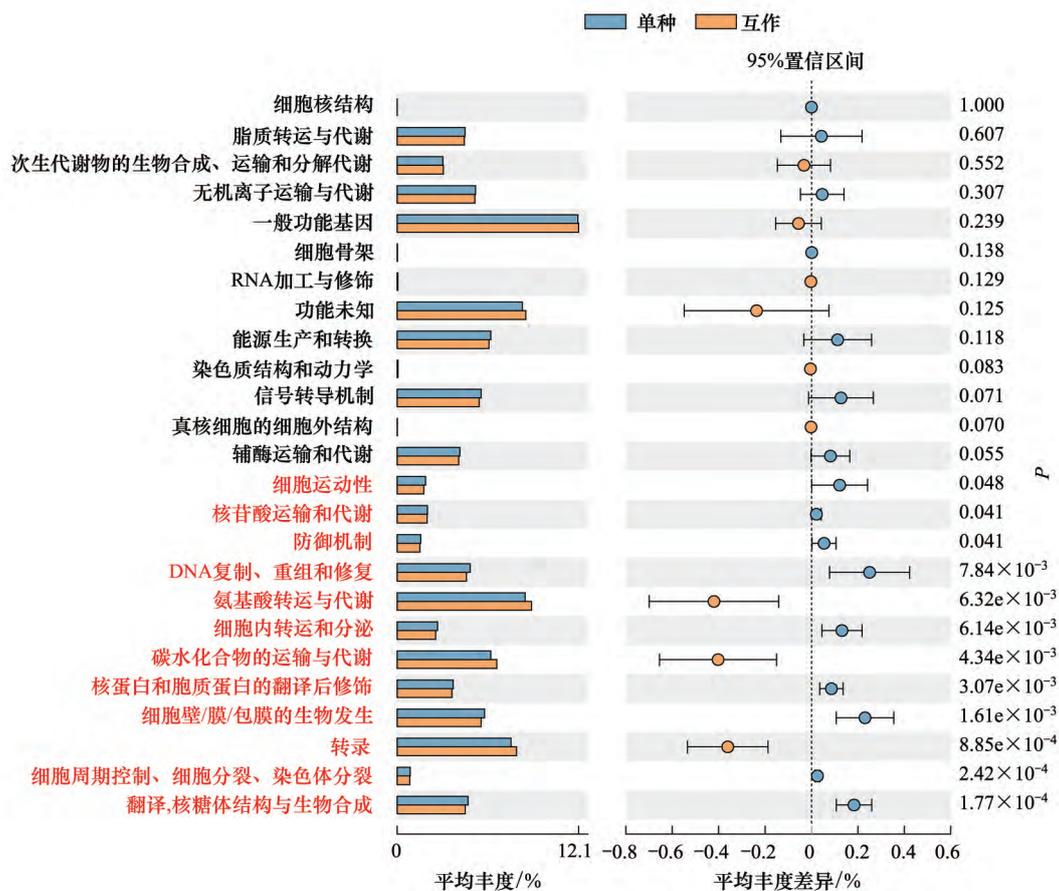


图 6 不同种植模式下疏叶骆驼刺根际细菌群落的功能预测

Fig.6 Functional prediction of rhizosphere bacterial community in *A. sparsifolia* under different planting patterns

疏叶骆驼刺不同根系的根际土壤细菌的基因功能不同(图 7)。疏叶骆驼刺细根的氨基酸和碳水化合物转运与代谢的相关基因丰度显著高于 4—5 级根, 核苷酸转运与代谢相关基因显著低于 4—5 级根。分析单独和互作条件下细根根际土壤细菌的基因功能, 结果表明, 互作条件下细根的氨基酸和碳水化合物转运与代谢的相关基因显著高于 4—5 级根。

3 讨论

3.1 互作对豆科植物氮素固定和利用的影响

氮素的利用与分配直接影响着植物的生长^[31]。大多数植物的生长都受到土壤氮素有效性的限制^[32], 在氮限制系统中, 豆类植物通过减少对氮的竞争^[33]或氮素转移来促进其他植物物种的生长。豆科植物可以利

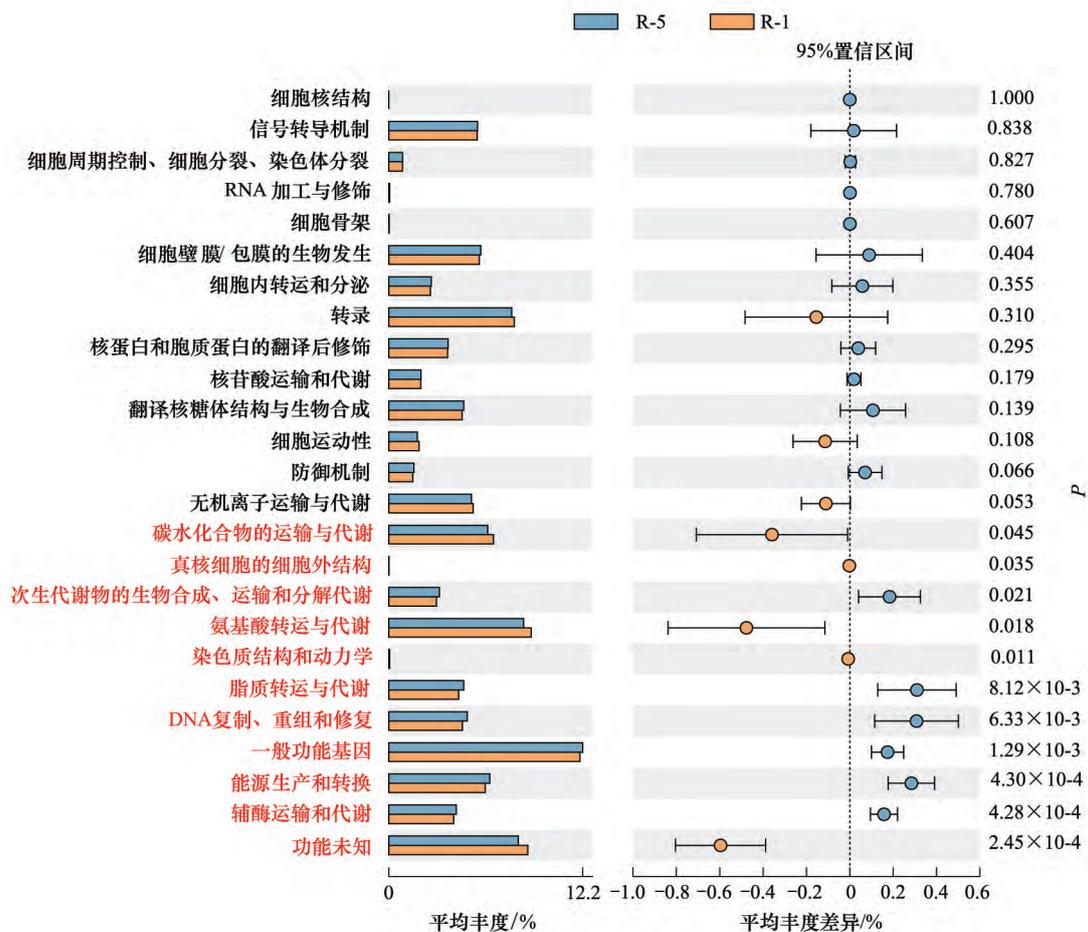


图 7 疏叶骆驼刺不同根际土壤细菌基因功能

Fig.7 Gene functions of soil bacteria in different rhizosphere of *A. sparsifolia*

用生物固氮为植物提供氮素,非豆科植物通过与豆科植物互作也可获得氮素^[34]。从豆科植物转移到邻近植物的氮量可能占非豆科植物总氮的8%—39%^[32]。本研究结果表明疏叶骆驼刺与花花柴在自然和小区两种生存环境下都有氮素转移特征,自然生境下疏叶骆驼刺和花花柴的互作关系更为紧密。疏叶骆驼刺和花花柴的 $\delta^{15}\text{N}$ 值在不同生境下变化幅度更大。这是因为小区土壤含水率,速效磷和土壤氮含量要高于自然荒漠土壤,pH 低于自然条件,小区的土壤环境更有利用植物生长(表3),非生物因子决定了植物互作关系的强弱^[35-37],氮素及水分胁迫可能决定了疏叶骆驼刺和花花柴的互作。在互作条件下,花花柴各组织的氮含量更多的向叶片转移。观察花花柴的物候发现,与疏叶骆驼刺互作的花花柴的生长季要比单种的长,互作的花花柴更高的叶片氮含量可能与之相关^[38-40]。

表 3 土壤主要性质的差异

Table 3 Differences of main properties of soil

类型 Type	全氮 Total nitrogen/(g/kg)	速效磷 Available P/(mg/kg)	土壤 pH Soil pH	土壤含水率/% Soil moisture content
自然 Field	0.05±0.01b	2.28±0.56b	8.80±0.12a	0.26±0.03b
小区 Plot	0.30±0.00a	6.38±0.19a	7.15±0.11b	6.05±0.12a

3.2 土壤微生物与植物互作

植物的相互作用通过相关微生物直接或间接的影响来实现^[41]。研究表明豆科植物与禾本科植物互作能

提高生物量、增加土壤微生物多样性和功能多样性^[42-44],而紫云英(豆科)与油菜互作,降低了油菜根际土壤细菌多样性^[45]。本研究发现疏叶骆驼刺与花花柴互作降低了疏叶骆驼刺根际细菌群落的 Shannon index,但对骆驼刺根际真菌群落以及花花柴根际微生物群落没有显著影响(表 2 和表 4)。可能原因是互作改变了疏叶骆驼刺氮素的获取方式,使疏叶骆驼刺从大气固氮,减少从土壤中吸收氮素的比例,形成了氮素“节约”型的氮素获取方式^[46],改变了疏叶骆驼刺根际的微环境。由于花花柴根系与疏叶骆驼刺根系相距较远,且小区土壤水分状况良好,对花花柴根际微环境影响不大。植物互作关系,主要反映在细菌群落和氮素水平上^[17]。豆科植物通过根系分泌物(氨基酸)将氮素转移到土壤之后,被非豆科植物吸收利用^[35]。本研究发现互作改变了疏叶骆驼刺根际细菌中与氮素运转相关的基因,包括氨基酸和碳水化合物的转运与代谢基因。这可能说明在疏叶骆驼刺和花花柴相互作用下,土壤微生物作为一个智能媒介将氮素从疏叶骆驼刺转移到了花花柴中,并进一步被运输到叶片中。

表 4 骆驼刺和花花柴根际土壤真菌群落的 α 多样性Table 4 Diversity of fungal communities in the rhizosphere between *A. sparsifolia* and *K. caspia*

多样性指数 Diversity-index	单种骆驼刺 D.AP	互作骆驼刺 H.AP	<i>P</i>	单种花花柴 D.A	互作花花柴 H.A	<i>P</i>
香侬指数 Shannon index	2.23±1.19	2.89±0.53	0.23	2.93±0.31	2.80±0.40	0.68
ACE 指数 ACE index	506.00±56	473.50±126	0.49	507.00±29	602.00±77	0.12
Chaol 指数 Chaol index	479.00±75	488.00±65	0.89	497.00±33	569.00±62	0.15
覆盖度 Coverage	0.99±0.00	0.99±0.00	0.51	0.99±0.00	0.99±0.00	0.39
辛普森指数 Simpson	0.38±0.32	0.16±0.11	0.15	0.13±0.05	0.14±0.05	0.87

3.3 植物互作对细根的影响

植物根系有两种不同的功能模块,包括 1—3 级具有吸收功能的细根和三级以上的运输根^[47-48],细根一般具有较高的氮素含量,较短的寿命,在资源利用方面具有可塑性^[19,49]。疏叶骆驼刺细根的氮含量显著高于 3 级根和 4—5 级根,与花花柴互作显著降低了疏叶骆驼刺细根的氮含量,细根氮含量的减少幅度小于粗根的,保证了细根生命活动对氮素的需求。互作降低了疏叶骆驼刺根际土壤细菌的多样性,使骆驼刺细根根际微生物向着专一性的功能群落演替。基因功能预测发现,互作改变了疏叶骆驼刺细根根际土壤细菌的基因功能,细根中参与转运氮素的相关基因在互作条件下显著高于单独种植。因此,细根可能是疏叶骆驼刺和花花柴互作的关键部位。

4 结论

疏叶骆驼刺与花花柴在自然和小区两种生存环境下都有氮素转移特征,自然生境下疏叶骆驼刺和花花柴的互作关系更为明显。环境因素对骆驼刺固氮,骆驼刺和花花柴互作的影响更大。在自然生境中,从疏叶骆驼刺转移到花花柴的氮素占花花柴总氮 50% 左右。小区互作种植的疏叶骆驼刺固氮作用降低,转移到花花柴的氮素降低到 30% 左右,花花柴各组织的氮含量更多地向叶片转移。疏叶骆驼刺与花花柴互作降低了疏叶骆驼刺根际细菌群落的 Shannon index,改变了疏叶骆驼刺细根根际土壤细菌的基因功能,细根中参与转运氮素的相关基因在互作条件下显著高于单独种植,但对花花柴根际微生物群落没有显著影响。互作降低了疏叶骆驼刺细根氮含量和细根根际土壤细菌多样性及其基因功能,疏叶骆驼刺细根可能是疏叶骆驼刺和花花柴互作的关键部位。综上所述,骆驼刺和花花柴互作增加了固氮量,有利于荒漠生态系统的稳定。

参考文献(References):

- [1] Cardinale B J, Duffy J E, Gonzalez A, Hooper D U, Perrings C, Venail P, Narwani A, Mace G M, Tilman D, Wardle D A, Kinzig A P, Daily G C, Loreau M, Grace J B, Larigauderie A, Srivastava D S, Naeem S. Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, 2012, 486(7401): 59–67.

- [2] Li L , Li S M , Sun J H , Zhou L L , Bao X G , Zhang H G , Zhang F S. Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus-deficient soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , 2007 , 104(27) : 11192–11196.
- [3] Li C Y , He X H , Zhu S S , Zhou H P , Wang Y Y , Li Y , Yang J , Fan J X , Yang J C , Wang G B , Long Y F , Xu J Y , Tang Y S , Zhao G H , Yang J R , Liu L , Sun Y , Xie Y , Wang H N , Zhu Y Y. Crop diversity for yield increase. *PLoS One* , 2009 , 4(11) : e8049.
- [4] 孙建 , 刘苗 , 李立军 , 刘景辉 , 张星杰. 免耕与留茬对土壤微生物量 C、N 及酶活性的影响. *生态学报* , 2009 , 29(10) : 5508–5515.
- [5] Chen H M , Ma J Y , Wei J X , Gong X , Yu X C , Guo H , Zhao Y W. Biochar increases plant growth and alters microbial communities via regulating the moisture and temperature of green roof substrates. *Science of the total Environment* , 2018 , 635: 333–342.
- [6] Yao X D , Zhang N L , Zeng H , Wang W. Effects of soil depth and plant-soil interaction on microbial community in temperate grasslands of northern china. *Science of the total Environment* , 2018 , 630: 96–102.
- [7] Geml J , Wagner M R. Out of sight , but no longer out of mind-towards an increased recognition of the role of soil microbes in plant speciation. *New Phytologist* , 2018 , 217(3) : 965–967.
- [8] 侯晓杰 , 汪景宽 , 李世朋. 不同施肥处理与地膜覆盖对土壤微生物群落功能多样性的影响. *生态学报* , 2007 , 27(2) : 655–661.
- [9] Knelman J E , Schmidt S K , Lynch R C , Darcy J L , Castle S C , Cleveland C C , Nemerug D R. nutrient addition dramatically accelerates microbial community succession. *PLoS One* , 2014 , 9(7) : e0102609.
- [10] Castle S C , Sullivan B W , Knelman J , Hood E , Nemerug D R , Schmidt S K , Cleveland C C. Nutrient limitation of soil microbial activity during the earliest stages of ecosystem development. *Oecologia* , 2017 , 185(3) : 513–524.
- [11] Van Der Putten W H , Van Dijk C , Peters B A M. Plant-specific soil-borne diseases contribute to succession in foredune vegetation. *Nature* , 1993 , 362(6415) : 53–56.
- [12] Kardol P , Cornips N J , Van Kempen M M L , Bakx-Schotman J M T , Van Der Putten W H. Microbe-mediated plant-soil feedback causes historical contingency effects in plant community assembly. *Ecological Monographs* , 2007 , 77(2) : 147–162.
- [13] Castle S C , Lekberg Y , Affleck D , Cleveland C C. Soil abiotic and biotic controls on plant performance during primary succession in a glacial landscape. *Journal of Ecology* , 2016 , 104(6) : 1555–1565.
- [14] Bardgett R D , Bowman W D , Kaufmann R , Schmidt S K. A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends in Ecology & Evolution* , 2005 , 20(11) : 634–641.
- [15] Van Der Heijden M G A , Bakker R , Verwaal J , Scheublin T R , Rutten M , Van Logtestijn R , Staehelin C. Symbiotic bacteria as a determinant of plant community structure and plant productivity in dune grassland. *FEMS Microbiology Ecology* , 2006 , 56(2) : 178–187.
- [16] Van Der Putten W H , Bardgett R D , Bever J D , Bezemer T M , Casper B B , Fukami T , Kardol P , Klironomos J N , Kulmatiski A , Schweitzer J A , Suding K N , Van De Voorde T F G , Wardle D A. Plant-soil feedbacks: the past , the present and future challenges. *Journal of Ecology* , 2013 , 101(2) : 265–276.
- [17] Knelman J E , Graham E B , Prev y J S , Robeson M S , Kelly P , Hood E , Schmidt S K. Interspecific plant interactions reflected in soil bacterial community structure and nitrogen cycling in primary succession. *Frontiers in Microbiology* , 2018 , 9: 128–128.
- [18] Bais H P , Weir T L , Perry L G , Gilroy S , Vivanco J M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology* , 2006 , 57: 233–266.
- [19] Liu B , He J X , Zeng F J , Lei J Q , Arndt S K. Life span and structure of ephemeral root modules of different functional groups from a desert system. *New Phytologist* , 2016 , 211(1) : 103–112.
- [20] Kou L , Jiang L , Fu X L , Dai X Q , Wang H M , Li S G. Nitrogen deposition increases root production and turnover but slows root decomposition in *Pinus elliottii* plantations. *New Phytologist* , 2018 , 218(4) : 1450–1461.
- [21] Zhang X , Xing Y J , Wang Q G , Yan G Y , Wang M , Liu G C , Wang H L , Huang B B , Zhang J H. Effects of long-term nitrogen addition and decreased precipitation on the fine root morphology and anatomy of the main tree species in a temperate forest. *Forest Ecology and Management* , 2020 , 455: 117664.
- [22] Pregitzer K S , King J S , Burton A J , Brown S E. Responses of tree fine roots to temperature. *New Phytologist* , 2000 , 147(1) : 105–115.
- [23] Coulis M , Bernard L , Gérard F , Hinsinger P , Plassard C , Villeneuve M , Blanchart E. Endogeic earthworms modify soil phosphorus , plant growth and interactions in a legume-cereal intercrop. *Plant and Soil* , 2014 , 379(1–2) : 149–160.
- [24] Macko S A , Fogel M L , Hare P E , Hoering T C. Isotopic fractionation of nitrogen and carbon in the synthesis of amino acids by microorganisms. *Chemical Geology: Isotope Geoscience Section* , 1987 , 65(1) : 79–92.
- [25] 黄东风 , 翁伯琦 , 罗涛. 豆科植物固氮能力的主要测定方法比较. *江西农业大学学报* , 2003 , 25(S1) : 17–20.
- [26] Boddey R M , Peoples M B , Palmer B , Dart P J. Use of the ¹⁵N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* , 2000 , 57(3) : 235–270.

- [27] Caporaso J G , Kuczynski J , Stombaugh J , Bittinger K , Bushman F D , Costello E K , Fierer N , Peña A G , Goodrich J K , Gordon J I , Huttley G A , Kelley S T , Knights D , Koenig J E , Ley R E , Lozupone C A , McDonald D , Muegge B D , Pirrung M , Reeder J , Sevinsky J R , Turnbaugh P J , Walters W A , Widmann J , Yatsunenko T , Zaneveld J , Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods* , 2010 , 7(5) : 335–336.
- [28] Edgar R C , Haas B J , Clemente J C , Quince C , Knight R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* , 2011 , 27(16) : 2194–2200.
- [29] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature Methods* , 2013 , 10(10) : 996–998.
- [30] Wang Q , Garrity G M , Tiedje J M , Cole J R. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology* , 2007 , 73(16) : 5261–5267.
- [31] 史作民, 唐敬超, 程瑞梅, 罗达, 刘世荣. 植物叶片氮分配及其影响因子研究进展. *生态学报* , 2015 , 35(18) : 5909–5919.
- [32] Høgh-Jensen H , Schjoerring J K. Interactions between white clover and ryegrass under contrasting nitrogen availability: N₂ fixation , N fertilizer recovery , N transfer and water use efficiency. *Plant and Soil* , 1997 , 197(2) : 187–199.
- [33] Temperton V M , P N Mwangi , Scherer-Lorenzen M , Schmid B , Buchmann N. Positive interactions between nitrogen-fixing legumes and four different neighbouring species in a biodiversity experiment. *Oecologia* , 2007 , 151(2) : 190–205.
- [34] O'Donovan J T , Grant C A , Blackshaw R E , Harker K N , Johnson E N , Gan Y T , Lafond G P , May W E , Turkington T K , Lupwayi N Z , Stevenson F C , McLaren D L , Khakbazan M , Smith E G. Rotational Effects of legumes and non-legumes on hybrid canola and malting barley. *Agronomy Journal* , 2014 , 106(6) : 1921–1932.
- [35] Maestre F T , Cortina J. Do positive interactions increase with abiotic stress? A test from a semi-arid steppe. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* , 2004 , 271(5) : S331–S333.
- [36] Marino D , Frendo P , Ladrera R , Zabalza A , Puppo A , Arrese-Igor C , Gonzalez E M. Nitrogen fixation control under drought stress. Localized or systemic? *Plant Physiology* , 2007 , 143(4) : 1968–1974.
- [37] Palmborg C , Scherer-Lorenzen M , Jumpponen A , Carlsson G , Huss-Danell K , Högborg P. Inorganic soil nitrogen under grassland plant communities of different species composition and diversity. *Oikos* , 2005 , 110(2) : 271–282.
- [38] 张林, 罗天祥. 植物叶寿命及其相关叶性状的生态学研究进展. *植物生态学报* , 2004 , 28(6) : 844–852.
- [39] 于鸿莹, 陈莹婷, 许振柱, 周广胜. 内蒙古荒漠草原植物叶片功能性状关系及其经济谱分析. *植物生态学报* , 2014 , 38(10) : 1029–1040.
- [40] 陈冠陶, 彭勇, 郑军, 李顺, 彭天驰, 邱细容. 氮添加对亚热带次生常绿阔叶林扁刺栲根生物量、寿命和形态的短期影响. *植物生态学报* , 2017 , 41(10) : 1041–1050.
- [41] Schirawski J , Perlin M H. Plant-microbe interaction 2017—the good , the bad and the diverse. *International Journal of Molecular Sciences* , 2018 , 19(5) : 1374–1374.
- [42] Suman A , Lai M , Singh A K , Gaur A. Microbial biomass turnover in Indian subtropical soils under different sugarcane intercropping systems. *Agronomy Journal* , 2006 , 98(3) : 698–704.
- [43] 胡举伟, 朱文旭, 张会慧, 许楠, 李鑫, 岳冰冰, 孙广玉. 桑树/大豆间作对植物生长及根际土壤微生物数量和酶活性的影响. *应用生态学报* , 2013 , 24(5) : 1423–1427.
- [44] 能凤娇, 吴龙华, 刘鸿雁, 任婧, 刘五星, 骆永明. 芹菜与伴矿景天间作对污泥农用铊镉污染土壤化学与微生物性质的影响. *应用生态学报* , 2013 , 24(5) : 1428–1434.
- [45] 周泉, 王龙昌, 邢毅, 马淑敏, 张小短, 陈娇, 石超. 间作紫云英下油菜根际土壤微生物群落功能特征. *应用生态学报* , 2018 , 29(3) : 909–914.
- [46] Paynel F , Cliquet J B. N transfer from white clover to perennial ryegrass , via exudation of nitrogenous compounds. *Agronomie* , 2003 , 23(5/6) : 503–510.
- [47] Pregitzer K S , DeForest J L , Burton A J , Allen M F , Ruess R W , Hendrick R L. Fine root architecture of nine north American trees. *Ecological Monographs* , 2002 , 72(2) : 293–309.
- [48] McCormack M L , Dickie I A , Eissenstat D M , Fahey T J , Fernandez C W , Guo D L , Helmisaari H S , Hobbie E A , Iversen C M , Jackson R B , Leppälammil-Kujansuu J , Norby R J , Phillips R P , Pregitzer K S , Pritchard S G , Rewald B , Zadworny M. Redefining fine roots improves understanding of below-ground contributions to terrestrial biosphere processes. *New Phytologist* , 2015 , 207(3) : 505–518.
- [49] Zhong B Y , Xiong D C , Shi S Z , Feng J X , Xu C S , Deng F , Chen Y Y , Chen G S. Effects of precipitation exclusion on fine-root biomass and functional traits of *Cunninghamia lanceolata* seedlings. *Chinese Journal of Applied Ecology* , 2016 , 27(9) : 2807–2814.