

DOI: 10.20103/j.stxb.202404270953

刘海卿, 孙万仓, 郭倩, 柴鹏, 祁伟亮, 杨刚, 刘容, 刘一帆, 杨苗苗, 张博. 冬油菜根际土壤真菌驱动及其影响土壤肥力的生态效益分析. 生态学报, 2025, 45(1): 80-90.

Liu H Q, Sun W C, Guo Q, Chai P, Qi W L, Yang G, Liu R, Liu Y F, Yang M M, Zhang B. Ecological benefit analysis of winter rapeseed rhizosphere soil fungi driving and influencing soil fertility. Acta Ecologica Sinica, 2025, 45(1): 80-90.

冬油菜根际土壤真菌驱动及其影响土壤肥力的生态效益分析

刘海卿^{1,2,*}, 孙万仓³, 郭倩^{1,2}, 柴鹏⁴, 祁伟亮^{1,2}, 杨刚³, 刘容^{1,2}, 刘一帆^{1,2}, 杨苗苗^{1,2}, 张博^{1,2}

1 陇东学院农业与生物工程学院, 庆阳 745000

2 甘肃省陇东生物资源保护利用与生态修复重点实验室, 庆阳 745000

3 甘肃农业大学农学院, 兰州 730070

4 甘肃省庆阳市西峰区农业技术推广中心, 庆阳 745000

摘要: 冬油菜是我国北方重要的油料作物和冬季覆盖作物, 为探讨白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤真菌群落组成, 及真菌驱动并影响土壤肥力的生态效益。对白菜型和甘蓝型冬油菜根际和非根际土壤微生物群落结构、土壤酶活性、土壤性质进行分析和比较。结果表明: (1) 白菜型和甘蓝型冬油菜根际微生物量碳 (MBC)、微生物量氮 (MBN)、微生物量磷 (MBP) 分别较非根际增加 22.8%、19.5%、27.4%、31.8%、11.4%、9.8%。(2) 冬油菜土壤根际真菌 α 多样性显著降低, 且一些致病菌如担子菌门、被孢菌门、壶菌门丰度也明显降低。(3) 不同类型冬油菜根际土壤微生物群落结构存在显著差异, 白菜型冬油菜的优势真菌门是子囊菌门, 占比超过总丰度的 83%, 其次是担子菌门、被孢菌门、壶菌门、毛霉门; 甘蓝型冬油菜的优势菌门是油壶菌门和 *Fungi_phy_Incertae_sedis*。(4) 冗余分析 (RDA) 显示, pH、有效磷 (AP)、全磷 (TP)、碱解氮 (AN)、全氮 (TN)、有机碳 (SOC) 和土壤含水量 (SWC) 是影响土壤真菌群落组成的重要环境因子。(5) 真菌群落组成差异显著影响土壤酶活性, 白菜型中, 磷酸酶和蔗糖酶活性高于甘蓝型, 过氧化氢酶则相反。(6) 微生物量和土壤酶显著影响土壤理化性质, 如增加 AN、AP、TP 含量、降低土壤盐碱度 (pH 降低) 等, 且白菜型比甘蓝型更显著。综上, 种植冬油菜可通过改变根际土壤真菌群落组成及结构, 进而驱动提高土壤酶活性和土壤可利用的氮、磷的含量, 提高土壤肥力, 调节 pH, 改良土壤特性, 具有良好的生态效益。研究结果为冬油菜-土壤-微生物互作研究及筛选分离益生真菌提供理论参考, 为进一步扩大冬季覆盖作物的种植面积, 优化农业产业结构提供一定的支撑。

关键词: 土壤真菌群落; 土壤酶; 土壤肥力; 冬油菜; 生态效益

Ecological benefit analysis of winter rapeseed rhizosphere soil fungi driving and influencing soil fertility

LIU Haiqing^{1,2,*}, SUN Wancang³, GUO Qian^{1,2}, CHAI Peng⁴, QI Weiliang^{1,2}, YANG Gang³, LIU Rong^{1,2}, LIU Yifan^{1,2}, YANG Miaomiao^{1,2}, ZHANG Bo^{1,2}

1 School of Agriculture and Bioengineering, Longdong University, Qingyang 745000, China

2 Gansu Key Laboratory of Protection and Utilization for Biological Resources and Ecological Restoration, Qingyang 745000, China

3 Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

4 Xifeng Agricultural Technology Extension Center, Qingyang 745000, China

基金项目: 国家自然科学基金项目 (3236150139); 甘肃省教育科技创新项目 (2023B-216); 陇东学院青年博士基金项目 (XYBYZK2209, XYBYZK2217)

收稿日期: 2024-04-27; **网络出版日期:** 2024-09-23

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: 15117162792@163.com

Abstract: Winter rapeseed is an important oil crop and winter cover crop in north China. To investigate the composition of rhizosphere soil fungi community and the ecological benefits of fungi driving and influencing soil fertility in different winter rapeseed (*Brassica rape* L. and *Brassica napus* L.). The microbial community composition, soil enzyme activity and soil physicochemical property in rhizosphere and non-rhizosphere soil of winter rapeseed were analyzed and compared. The results showed as follows: (1) The rhizosphere microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen and microbial biomass phosphorus increased by 22.8%, 19.5%, 27.4%, 31.8%, 11.4% and 9.8% than non-rhizosphere soil, respectively. (2) The comparisons of alpha diversity of fungus communities in winter rapeseed decreased significantly, and the abundance of some pathogenic fungus such as *Basidiomycetes*, *Mortispora* and *Chytridomycetes* also decreased significantly. (3) There were significant differences in rhizosphere soil microbial community composition among different types of winter rapeseed. *Ascomycetes* were the dominant microorganisms in *Brassica rape*, accounting for more than 83% of the total abundance, followed by *Basidiomycetes*, *Mortieromycetes*, *Chytridomycetes* and *Mucoromycota*. The dominant microorganisms of *Brassica napus* were *Ochrochytridia* and *Fungi_phy_Incertae_sedis*. (4) The pH, available phosphorus, total phosphorus, alkali-hydrolyzed nitrogen, total nitrogen, organic carbon and soil water content were important environmental factors affecting the composition of soil fungal communities. (5) The activity of phosphatase and urease in *Brassica rape* was higher than that in *Brassica napus*, but catalase is the opposite. (6) The amount of microorganisms and soil enzymes significantly altered soil physicochemical properties, such as AN, AP, TP were significantly increased and soil salinity was reduced, and the *Brassica rape* was more significant than the *Brassica napus*. In conclusion, planting winter rapeseed can improve soil fertility and soil physicochemical properties by changing the composition and structure of rhizosphere soil fungal community, thereby driving the increase of soil enzyme activity, the content of soil available nitrogen and phosphorus, and adjust pH, thus having good ecological benefits. The results provided theoretical reference for the study of winter rapeseed-soil-microbial interaction and the screening and separation of probiotics, and provided certain support for further expanding the planting area of winter cover crops and optimizing the agricultural industrial structure.

Key Words: soil fungal community; soil enzyme; soil fertility; winter rapeseed; ecological benefits

我国北纬 35° 以北的北方地区冬季气候严寒,生态条件恶劣,冬油菜是除冬小麦和冬豌豆外重要的越冬作物,种植冬油菜一方面可增加冬、春两季的植被覆盖度,实现农田的周年不间断地表有机覆盖,有效地减少沙尘源,保育农田,改善生态环境条件,具有显著的生态效益^[1];另一方面冬油菜的根系发达可降低土壤容重和增加孔隙度,枯落物还田可增加有机质含量,改善土壤理化性质,是重要的养地作物^[2]。白菜型(*Brassica rape* L.)和甘蓝型(*Brassica napus* L.)冬油菜是北方地区两种主要的冬油菜类型,根际微生物的群落结构和多样性对冬油菜及其它作物的生长发育及土壤有机质的转化具有重要的影响^[3],然而关于白菜型和甘蓝型冬油菜根际和非根际土壤真菌群落结构和差异对土壤酶、土壤养分及土壤理化性质的影响未有研究报道,因此,本研究分析冬油菜根际土壤微生物(真菌)驱动并影响土壤肥力的生态效益,对阐明冬油菜—土壤—微生物之间的互作,利用益生菌优化冬油菜栽培措施,减少化肥农药的使用量,改善土壤生态环境,推动现代农业的可持续发展具有重要生态意义。

国内外关于油菜对土壤微生物和土壤性质的研究已有大量文献报道,研究发现,土壤细菌是土壤中数量最多、分布最广的微生物^[4],变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)和绿菌门(*Chloroflexi*)是细菌多样性占 80% 以上的 5 个主要门^[5-6]。在调节碳动态、养分循环和植物生产力等方面发挥着重要作用^[7]。种植甘蓝型油菜可提高土壤酸性磷酸酶的活性,及增加优势细菌门子囊菌门(*Ascomycota*)和被孢霉门(*Mortierellomycota*)的丰度^[8],使油菜根系具有很好的解磷作用。油菜土壤微生物能促进宿主植物吸收营养元素,提高油料作物油脂积累^[9]。冬油菜覆盖可以提高 0—30 cm 土层土壤含水量和氮、磷、钾的含量,土壤基础养分氮磷钾含量与细菌和真菌的优势菌门呈正相关关系^[10]。

影响油菜根际土壤微生物的因素很多,而油菜的不同生育时期是影响其根际微生物群落结构和多样性的重要原因。花期土壤微生物多样性和丰富度显著高于角果期和苗期^[11],变形菌门细菌在苗期的相对丰度显著高于花期和成熟期,而酸杆菌门、蓝细菌门、厚壁菌门细菌的丰度在花期要显著高于苗期和角果成熟期^[12]。降低整体微生物多样性可影响植物多样性和生物产量,微生物多样性降低主要通过抑制土壤氮素释放影响植物生长^[13]。白菜型冬油菜因具有强抗寒性,甘蓝型冬油菜具有抗倒伏、宜于机械化等优点而被广泛种植,但关于白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤真菌群落多样性的比较及改良土壤特性的生态效益研究未见报道。

因此本研究通过对白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤真菌群落结构、多样性进行比较分析,并研究土壤真菌驱动并影响土壤肥力的作用,以期为阐明冬油菜根际真菌改良土壤特性的生态效益,为进一步扩大冬季覆盖作物的种植面积,推动冬季覆盖作物的发展提供一定的支撑。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于 2022 年 8 月—2023 年 6 月在甘肃省庆阳市西峰区进行,试验地(西峰区彭原镇下庄村)位于陇东黄土高原董志原腹地,纬度 35°73',经度 107°63',属温带大陆性半干旱气候,年日照总数 2400—2600 h,年降水量 400—600 mm,年平均气温 10℃,无霜期 160—180 d,光照充足,四季分明,地势平坦,土壤为灰棕色粘壤土。样地分别为白菜型(*Brassica rape* L.)冬油菜和甘蓝型(*Brassica napus* L.)冬油菜大面积示范地,前茬作物为冬小麦,冬油菜于 2022 年 8 月 28 日播种,施 450 kg/hm²磷酸二铵,225 kg/hm²尿素做种肥,采用开沟条播的方式播种,行距 20 cm,株距 8—10 cm,按照常规田间管理方法管理,于 2023 年 6 月冬油菜收获期进行取样,冬油菜整株采挖,抖取冬油菜根际土壤,5 株油菜的根际土壤样品混合后去除杂质作为一个测试样品,设 3 个重复,同时用直径 5 cm 的土壤圆柱螺旋钻在冬油菜间隔空地收集 0—20 cm 的土壤样品(非根际土壤)作对照(CK),5 个点混合为一个样品,设 3 个重复。将每个样地的土壤样品混合后去除杂质,分为两个子样品。一个子样品迅速放入冰盒中,带回实验室后转入-80℃冰箱中保存进行后续土壤微生物测定;另一个子样品带回实验室进行土壤性质和土壤酶活性测定。

1.2 测定指标与方法

1.2.1 土壤养分和土壤性质测定

土壤有机碳含量(Soil organic carbon, SOC)、土壤全氮含量(Total nitrogen, TN)和土壤全磷含量(Total phosphorus, TP)分别采用重铬酸盐氧化法、凯氏定氮法和钼酸铵比色法测定^[14]。土壤碱解氮含量(Alkali-hydrolyzable nitrogen, AN)和土壤有效磷(Available phosphorus, AP)含量分别采用碱水解扩散法^[15]和双酸浸提-钼锑抗比色法^[16]测定。土壤含水量(Soil water content, SWC)采用重量法测定,土壤 pH 采用赛多利斯 PB-10 pH 计测定。

1.2.2 土壤酶含量测定

土壤酶含量测定参照刘爽等^[17]的方法,土壤过氧化氢酶(Catalase, CAT)、蔗糖酶(Invertase)、脲酶(Urease)和磷酸酶(Phosphatase)活性分别采用 KMnO₄ 滴定法、3,5-二硝基水杨酸法、苯酚钠-次氯酸钠比色法、磷酸苯二钠比色法测定,其中过氧化氢酶活性用 20 min 后 1 g 样品消耗 0.1 mol/L 高锰酸钾的毫升数表示。

1.2.3 土壤微生物量测定

土壤微生物量采用氯仿熏蒸法^[18]测定,微生物量碳(Microbial biomass carbon, MBC)采用重铬酸钾-浓硫酸外加热法测定,微生物量氮(Microbial biomass nitrogen, MBN)采用茚三酮比色法测定,微生物量磷(Microbial biomass phosphorus, MBP)采用氯仿熏蒸-NaHCO₃浸提法测定。

1.2.4 土壤真菌高通量测序

采用 CTAB 法提取全基因组 DNA。真菌 ITS 扩增采用前引物序列 ITS1-5F (5'-GGAAGTAAAA GTCGTAACAAGG-3'),后引物序列 ITS2 (5'-GCTGCGTCTTCATCGATGC-3')。PCR 体系为 15 μL Phusion

⑥ High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs)、0.2 $\mu\text{mol/L}$ 引物和 10 ng 基因组 DNA 模板, PCR 程序为 98℃ 预变性 5 min, 然后 98℃ (10s)、50℃ (30s) 和 72℃ (30 s) 进行 30 次循环, 最后 72℃ 终延伸 7 min。PCR 产物使用 2% 浓度的琼脂糖凝胶进行电泳检测, 对检测合格的 PCR 产物进行磁珠纯化, 采用酶标定量, 根据 PCR 产物浓度进行等量混样, 充分混匀后使用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 并回收目的条带。PCR 产物使用 TruSeq® DNA PCR-free Sample Preparation Kit (Illumina, USA) 试剂盒构建测序文库。使用 Qubit 2.0 和 Agilent Bioanalyzer 2100 系统评估文库的质量。构建好的文库经过 Qubit 和 qPCR 定量, 文库合格后, 使用 NovaSeq6000 进行 Illumina NovaSeq PE250 上机测序。高通量基因测序由北京诺禾致源生物信息技术有限公司完成。

1.3 数据处理

用 FLASH (Version 1.2.11, <http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>)^[19] 和 QIIME2 (Version QIIME2-202202)^[20] 对高通量测序原始数据进行拼接和过滤之后获得有效数据, 从而进行可操作性分类单元 (OTUs) 聚类 and 物种分类。在 Uparse 软件 (Uparse v7.0.1001) 中进行序列分析, 认为相似度 $\geq 97\%$ 的序列为相同 OTUs, 代表序列为 OTUs 中丰度最大的序列。最后使用 Silva 数据库注释代表性序列^[21]。

数据统计和预处理在 Microsoft Excel 2020 中进行。利用 SPSS 19.0 进行单因素方差分析, 差异显著性采用邓肯法。主坐标分析 (PCoA)、冗余分析 (RDA) 在 R 4.1.1 软件中进行。绘图在 Graph pad 8.0, R 软件中进行。

2 结果与分析

2.1 白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤性质比较

土壤养分是土壤肥力最直接的表现特征, 通过分析比较白菜型和甘蓝型冬油菜收获期土壤性质差异。结果显示 (表 1), 白菜型和甘蓝型冬油菜收获期土壤有机碳、全氮, 土壤含水量没有明显差异。但全磷、碱解氮、有效磷、pH 差异明显, 其中, 白菜型冬油菜根际全磷较 CK 增加 10%, 但甘蓝型油菜与 CK 相比差异不明显; 白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤碱解氮分别较 CK 高 9.3%、4.2%, 白菜型和甘蓝型之间差异不显著; 有效磷分别较 CK 增加 81.2%、35.5%, 且两种油菜之间差异极显著 ($P < 0.01$); 白菜型冬油菜土壤 pH 较 CK 和甘蓝型油菜降低。以上结果说明, 种植冬油菜可以提高土壤水解性氮的含量和土壤中可被植物吸收利用的磷的含量, 降低土壤的盐碱度, 且白菜型冬油菜根际的土壤肥力高于甘蓝型油菜。

表 1 白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤性质比较

Table 1 Comparison of rhizosphere soil properties under different winter rapeseed (*Brassica rape* L. and *Brassica napus* L.)

处理 Treatment	有机碳 Soil organic carbon/ (g/kg)	全氮 Total nitrogen/ (g/kg)	全磷 Total phosphorus/ (g/kg)	碱解氮 Alkali- hydrolyzable nitrogen/ (mg/kg)	有效磷 Available phosphorus/ (mg/kg)	pH	土壤含水量 Soil water content/%
白菜型油菜 <i>Brassica rape</i> L.	8.64 $\pm$ 0.27a	0.93 $\pm$ 0.03a	0.88 $\pm$ 0.03a	55.26 $\pm$ 3.09a	20.42 $\pm$ 0.93Aa	7.75 $\pm$ 0.10b	10.19 $\pm$ 1.33ab
甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i> L.	8.32 $\pm$ 0.50a	0.90 $\pm$ 0.07a	0.81 $\pm$ 0.01b	52.66 $\pm$ 1.48ab	15.27 $\pm$ 0.73 Bb	8.30 $\pm$ 0.03a	9.69 $\pm$ 0.42b
对照 CK	8.09 $\pm$ 0.19a	0.87 $\pm$ 0.02a	0.80 $\pm$ 0.01b	50.53 $\pm$ 1.47b	11.77 $\pm$ 0.28Cc	8.35 $\pm$ 0.04a	9.99 $\pm$ 0.63b

表中数据后的大写和小写字母分别表示同一指标不同处理间在 $P < 0.01$ 和 $P < 0.05$ 水平差异显著

2.2 白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤酶活性分析

土壤酶直接影响土壤有机物质的分解转化和合成过程, 酶活性反映土壤中各种养分代谢活动的强度和方向, 是评价土壤肥力状况的重要指标。测定结果显示 (表 2), 冬油菜根际土壤磷酸酶、蔗糖酶、过氧化氢酶活性均较非根际土壤增加, 白菜型和甘蓝型冬油菜磷酸酶分别较 CK 增加 20.0%、18.1%, 但不同油菜间差异不

显著;蔗糖酶分别较 CK 增加 45.3%、23.2%,且白菜型冬油菜高于甘蓝型冬油菜($P<0.01$);过氧化氢酶分别增加 4.6%、9.2%,处理间差异极显著($P<0.01$)。然而脲酶处理间无明显差异。以上结果暗示冬油菜根际土壤磷、有机质转化效率较非根际提高,土壤呼吸强度较非根际增强。

表 2 白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤酶活性比较

Table 2 Soil enzyme under different winter rapeseed (*Brassica rape* L. and *Brassica napus* L.)

处理 Treatment	脲酶/(mg d ⁻¹ g ⁻¹) Urease	磷酸酶/(mg d ⁻¹ g ⁻¹) Phosphatase	蔗糖酶/(mg d ⁻¹ g ⁻¹) Invertase	过氧化氢酶/(mL/g) Catalase
白菜型油菜 <i>Brassica rape</i> L.	2.46±0.12 a	3.24±0.09 A	55.66±1.83 A	8.45±0.05 B
甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i> L.	2.48±0.012 a	3.19±0.13 A	47.20±2.50 B	8.82±0.06 A
CK	2.45±0.05 a	2.70±0.14 B	38.30±1.30 C	8.07±0.12 C

2.3 白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤微生物含量分析

以上结果显示,白菜型冬油菜和甘蓝型冬油菜成熟期根际土壤性质和土壤酶差异明显,尤其是碱解氮、有效磷、pH、磷酸酶、蔗糖酶和过氧化氢酶,推测这些差异可能是由土壤微生物丰度差异引起的,因此测定土壤微生物含量,发现冬油菜根际土壤微生物量碳、生物量氮、生物量磷均较非根际土壤差异极显著($P<0.01$) (图 1),其中白菜型冬油菜和甘蓝型冬油菜根际土壤微生物量碳分别较 CK 增加 22.8%、19.5%;微生物量氮分别较 CK 增加 27.4%、31.8%;微生物量磷分别较 CK 增加 11.4%、9.8%,但是白菜型和甘蓝型之间差异不显著,这些结果说明种植冬油菜显著提高了土壤微生物的含量。

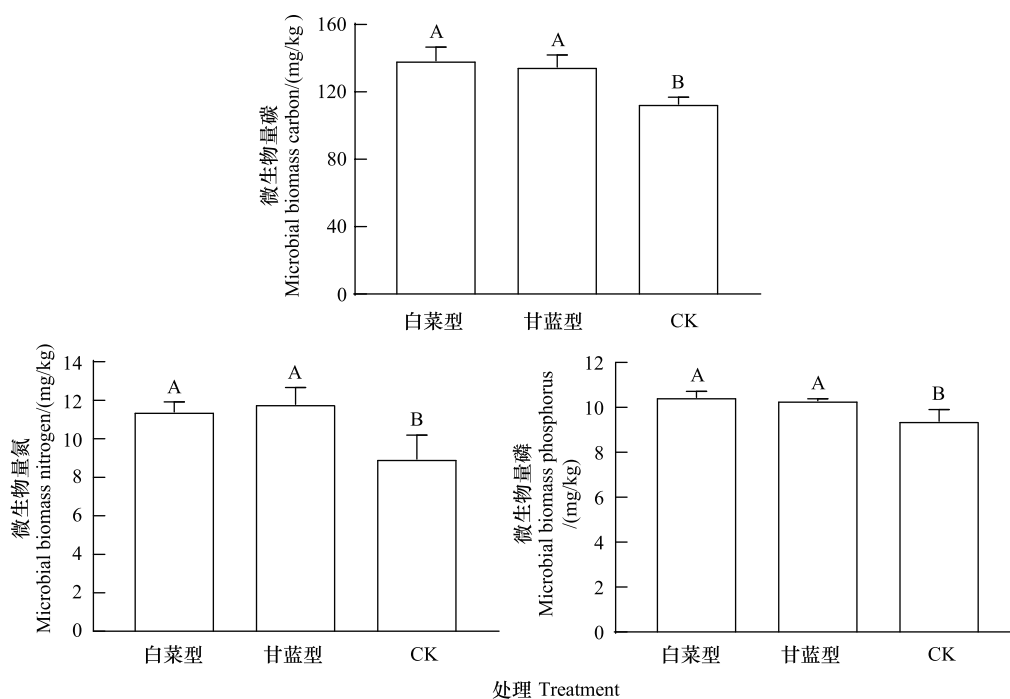


图 1 白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤微生物含量

Fig.1 Rhizosphere soil microbial biomass of different winter rapeseed (*Brassica rape* L. and *Brassica napus* L.)

图柱上标不同大写字母表示不同处理间在 $P<0.01$ 水平差异显著

2.4 白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤真菌 α 多样性分析

测定白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤真菌含量,其中样本的测序深度 (Goods_coverage) 为 0.999—1,表明数据是可靠的。结果显示真菌 α 多样性较 CK 差异显著($P<0.01$),白菜型冬油菜和甘蓝型冬油菜根际土壤微生物 Shannon 多样性指数、Chao1 丰富度指数、Observe 丰富度指数、Pielou 均匀度指数均较 CK 降低 (图 2), Shannon 指数分别降低 28.7%、38.3%, Chao1 指数分别降低 45.2%、62.0%, Observe 指数分别降低 46.8%、

61.3%,但白菜型和甘蓝型之间差异不显著,甘蓝型冬油菜根际土壤微生物 Simpson 优势度指数较 CK 降低 13.6%,但白菜型较 CK 差异不显著,这些结果说明种植冬油菜显著降低了土壤根际真菌 α 多样性。

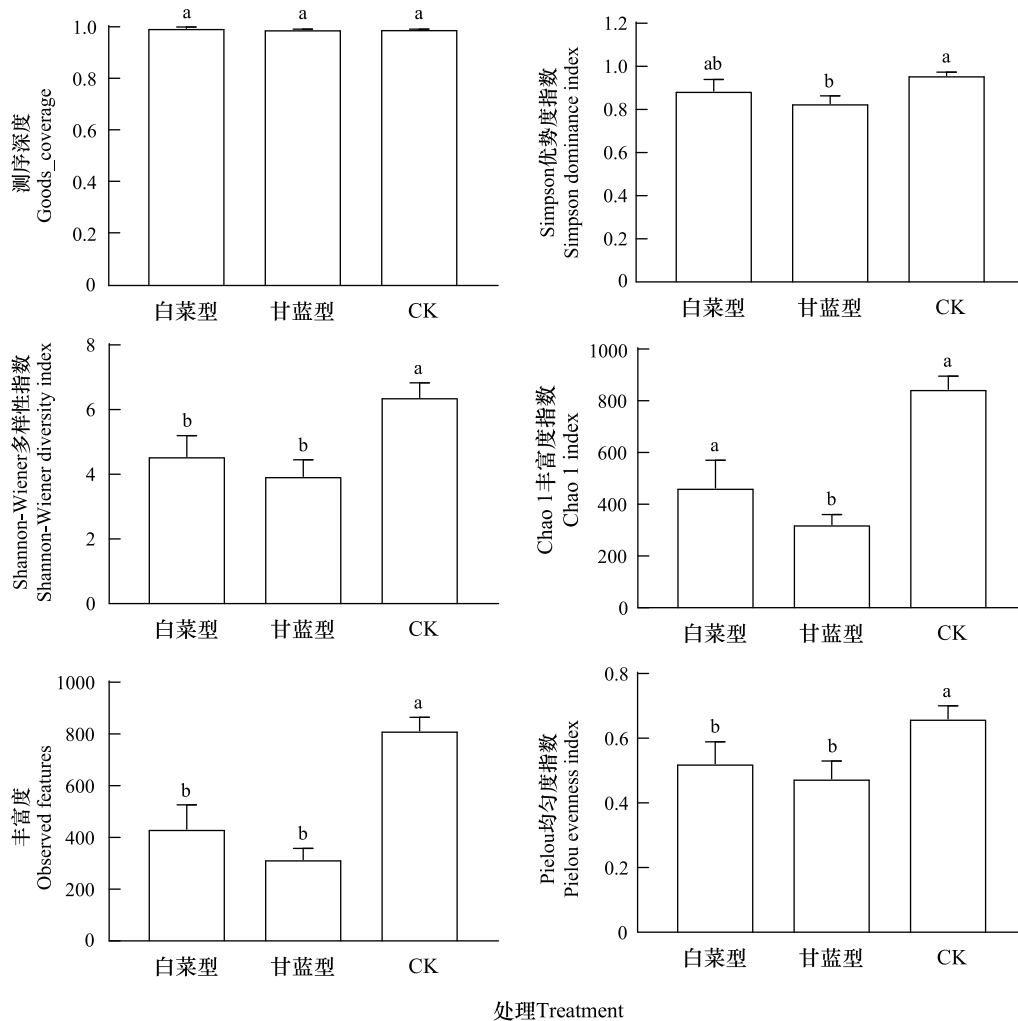


图 2 白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤真菌 α -多样性的比较

Fig.2 Comparisons of alpha diversity of fungus communities under different winter rapeseed (*Brassica rape* L. and *Brassica napus* L.)

图柱上标不同小写字母表示不同处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著

2.5 白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤真菌优势门相对丰度分析

分析了土壤真菌在门水平的相对丰度,只列出相对丰度最高的 10 个门(图 3)。结果表明,不同冬油菜根际土壤真菌优势菌门组成差异明显,其中相对丰度最高的 10 个门为子囊菌门、担子菌门、油壶菌门、被孢菌门、*Fungi_phy_Incertae_sedis* (未注释)、壶菌门、毛霉门、芽枝霉门、捕虫霉门、球囊菌门。与甘蓝型油菜相比,白菜型冬油菜的优势菌门是子囊菌门,占比超过总丰度的 83%,且显著高于甘蓝型油菜和 CK。其次是担子菌门、被孢菌门、壶菌门、毛霉门,显著高于甘蓝型油菜。与白菜型相比,甘蓝型油菜的优势菌门是油壶菌门和 *Fungi_phy_Incertae_sedis*,显著高于白菜型。然而,与非根际土壤相比,白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤致病菌的含量明显降低,如担子菌门(作物主要致病菌)、被孢菌门、壶菌门(传播一些土壤中的病毒)均较 CK 降低。说明种植冬油菜没有引起土壤真菌优势门组成的改变,但引起了土壤真菌优势门相对丰度的显著变化。

2.6 白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤真菌群落组成变化分析

不同冬油菜的根际土壤真菌群落组成不同(图 4)。主坐标分析(PCoA)的前两个主成分轴分别占真菌群落组成方差的 28%和 19%。结果表明,同一处理的点聚集在一起,与 CK 相比,不同冬油菜的点沿第一轴

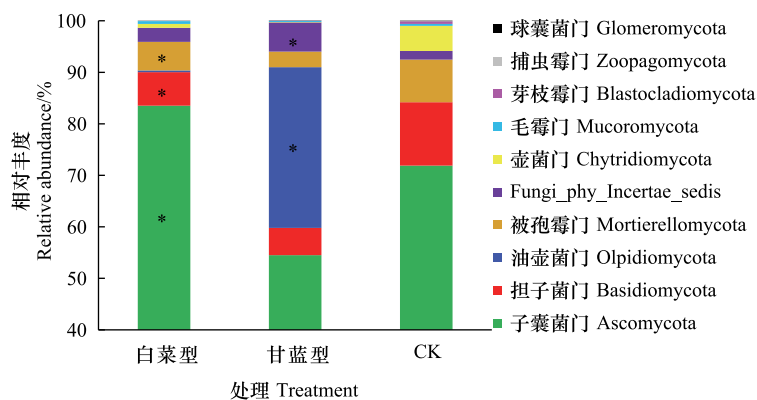


图3 土壤真菌在门水平的相对丰度

Fig.3 Relative abundance of soil fungus at the phylum level

“*”表示同一指标不同处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著

(PC1)显著分离,而白菜型和甘蓝型相比,两者的点沿第二轴(PC2)显著分离。结果说明不同处理,真菌群落组成两两之间均不相同。

2.7 白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤真菌群落影响因素分析

分析影响冬油菜根际土壤真菌优势门丰度的土壤环境因子(图5),相关性分析结果显示,子囊菌门的丰度与全磷呈极显著正相关关系,与有效磷呈显著正相关关系,与过氧化氢酶的含量呈显著负相关关系;担子菌门的丰度与过氧化氢酶的含量、微生物量氮显著负相关;油壶菌门与过氧化氢酶的含量呈极显著正相关关系,与pH呈显著负相关;被孢霉门与过氧化氢酶的含量呈显著负相关关系;壶菌门与全磷显著正相关,与微生物量氮显著负相关;毛霉门与脲酶显著负相关;芽枝霉门与碱解氮呈极显著负相关关系,与磷酸酶、蔗糖酶呈显著负相关;捕虫霉门与全磷显著正相关,与微生物量氮显著负相关;球囊菌门与pH呈极显著正相关关系,与微生物量磷极显著负相关,与蔗糖酶显著负相关。

冗余分析(RDA)表明土壤性质对土壤真菌群落组成差异的解释总方差为41.72%(图5),第一轴和第二轴的解释方差分别为23.69%和18.03%。结果表明pH、有效磷、全磷、碱解氮、全氮、有机碳和土壤含水量是影响土壤真菌群落组成的重要环境因子。

2.8 微生物量对土壤性质和土壤酶的影响分析

相关性分析结果表明,微生物量碳与蔗糖酶和磷酸酶呈极显著正相关关系,与有机碳、全氮、全磷呈显著正相关关系,与pH呈显著负相关关系;微生物量氮与碱解氮、磷酸酶呈极显著正相关关系,与有机碳蔗糖酶呈显著正相关关系,与土壤水分含量呈显著负相关关系;微生物量磷与磷酸酶呈极显著正相关关系,与碱解氮呈显著正相关关系,与土壤水分呈极显著正相关关系(表3)。以上结果说明,微生物含量显著影响微生物磷酸酶、蔗糖酶、碱解氮、有机碳、pH、土壤水分等土壤性质。

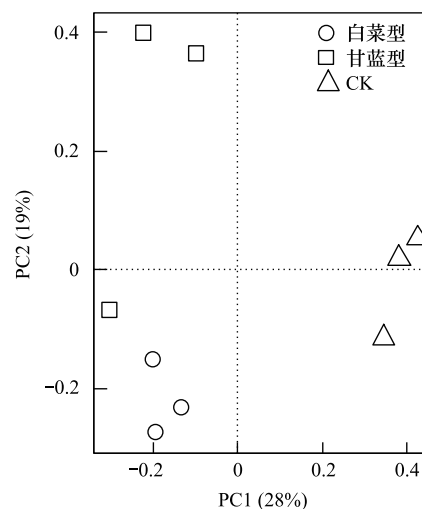


图4 基于 Bray-Curtis 距离土壤真菌群落(OTUs 水平)的主坐标分析(PCoA)

Fig.4 Principal coordinates analysis (PCoA) of soil fungus communities (OTUs level) based on Bray-Curtis distances

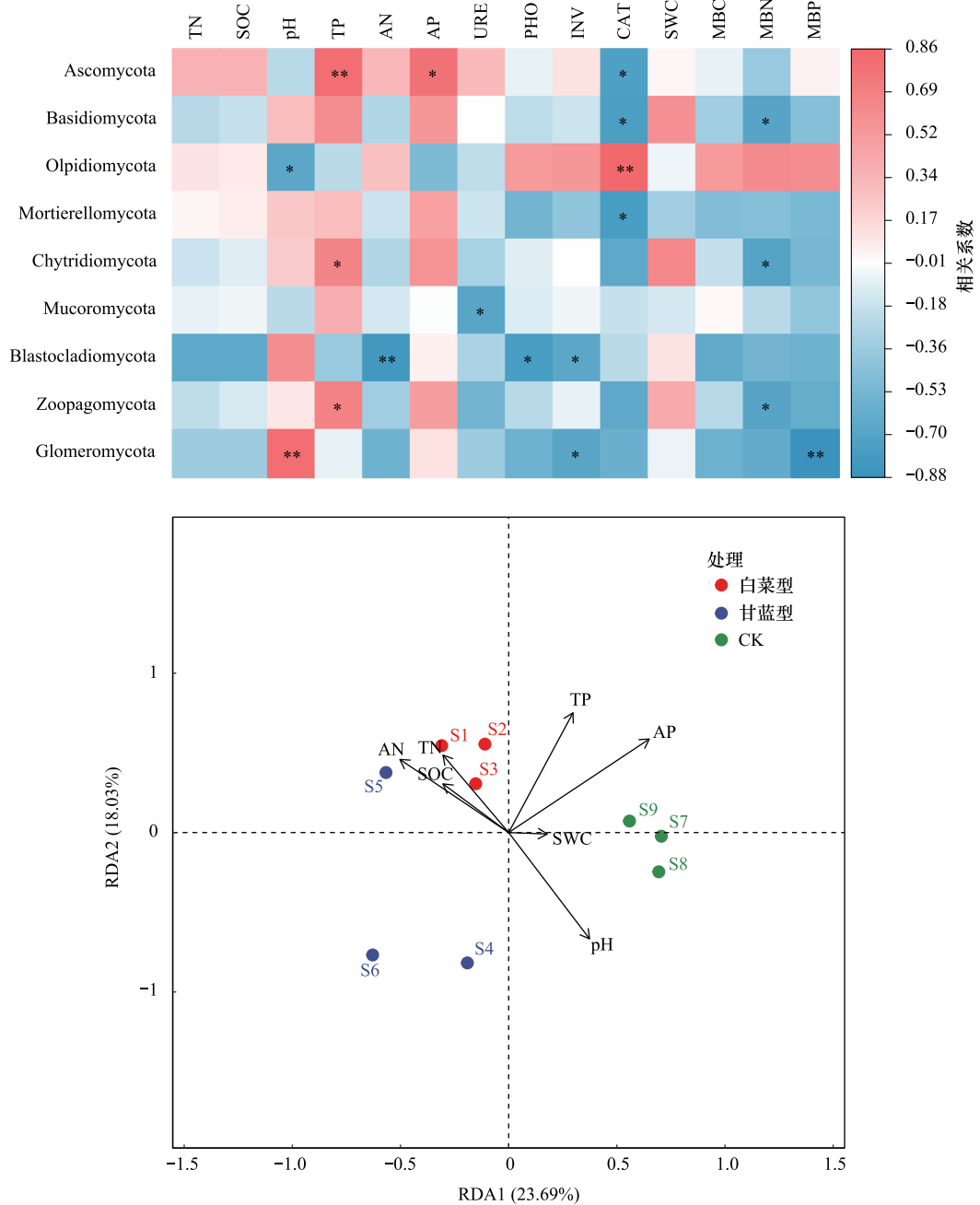


图 5 土壤真菌群落的影响因子

Fig.5 Influencing factors of soil fungus community

a:土壤真菌优势门相对丰度和多样性与土壤因素的斯皮尔曼相关性热图;b:土壤因子与土壤真菌群落的冗余分析(RDA);“*”,“**”分别表示 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 水平的差异显著性;TN:全氮;SOC:土壤有机碳;TP:全磷;AN:碱解氮;AP:有效磷;URE:脲酶;PHO:磷酸酶;INV:蔗糖酶;CAT:过氧化氢酶;SWC:土壤含水量;MBC:微生物量碳;MBN:微生物量氮;MBP:微生物量磷

3 讨论与结论

3.1 白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤真菌群落组成对土壤酶和土壤性质的影响

冬油菜是我国北方地区重要的油料作物,但由于该区域冬春季生态条件严酷,因此抗寒性和适宜栽培技术就成为北方冬油菜研究的重要课题^[22]。关于抗寒性的研究,如抗寒基因挖掘和抗寒性评价等方面已经取

表 3 微生物量与土壤性质和土壤酶的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of microbial biomass with soil properties and soil enzymes

微生物量 Microbial biomass	有机碳 SOC	全氮 TN	全磷 TP	碱解氮 AN	有效磷 AP	脲酶 Urease	蔗糖酶 Invertase	磷酸酶 Phosphatase	过氧化 氢酶 CAT	pH	土壤 含水量 SWC
微生物量碳 Microbial biomass carbon	0.649 *	0.591 *	0.5	0.622 *	0.18	0.323	0.807 **	0.920 **	0.4	-0.630 *	-0.5
微生物量氮 Microbial biomass nitrogen	0.638 *	0.537	0.32	0.756 **	0.07	0.544	0.672 *	0.894 **	0.4	-0.54	-0.610 *
微生物量磷 Microbial biomass phosphorus	0.494	0.408	0.57	0.578 *	0.44	0.492	0.508	0.820 **	0.06	-0.55	-0.742 **

有机碳 Soil organic carbon, SOC;全氮 Total nitrogen, TN;全磷 Total phosphorus, TP;碱解氮 Alkali-hydrolyzable nitrogen, AN;有效磷 Available phosphorus, AP;过氧化氢酶 Catalase, CAT;土壤含水量 Soil moisture content, SMC;微生物量碳 Microbial biomass carbon, MBC;微生物量氮 Microbial biomass nitrogen, MBN;微生物量磷 Microbial biomass phosphorus, MBP;“*”和“**”分别表示 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平的差异显著性

得大量成果^[23–25]。但是关于白菜型和甘蓝型冬油菜根际土壤微生物组成,根际微生物促生菌的分离及利用微生物改良耕作环境的生态效益研究较少。本研究结果显示,种植冬油菜能够显著提高微生物量碳、氮、磷的含量。与非根际土壤相比,冬油菜根际土壤真菌的 α 多样性降低,但是增加了真菌优势菌门的丰度,降低一些致病菌如担子菌门、被孢菌门、壶菌门的丰度,与甘蓝型冬油菜相比,白菜型冬油菜的优势菌门是子囊菌门、担子菌门、被孢菌门、壶菌门、毛霉门,且显著高于甘蓝型冬油菜。甘蓝型冬油菜的优势菌门是油壶菌门和 *Fungi_phy_Incertae_sedis*,显著高于白菜型。甘国渝等^[26]研究也表明在平衡施肥情况下,油菜根际真菌多样性低于非根际土壤,真菌优势物种是子囊菌门和担子菌门,本研究也得到相似的结果。本研究结果揭示,种植冬油菜显著提高蔗糖酶、磷酸酶、过氧化氢酶的活性,并使全磷、速效磷、碱解氮的含量明显增加,且根际土壤高于非根际土壤,白菜型高于甘蓝型。前人相关研究同样也得到了相似结果,如内生真菌对醉马草土壤酶和土壤养分的影响研究表明,真菌显著增加速效磷和硝态氮含量,同时增强了土壤蔗糖酶和碱性磷酸酶活性,从而提高了土壤 N、P 的有效性^[27]。闫妮等^[28]研究也表明,土壤中添加丛枝菌根真菌显著提高土壤磷酸酶、脲酶和碱性磷酸酶的活性。户萌菲等^[29]研究表明,内生真菌可以调控植物,影响植物附近土壤的酶活性。这些结果说明,种植冬油菜通过影响根际土壤真菌的组成,从而影响土壤蔗糖酶、磷酸酶、过氧化氢酶的活性。蔗糖酶活性能够反映土壤呼吸强度,酶促作用产物葡萄糖是植物、微生物的营养源;磷酸酶活性能够反映土壤有机磷转化状况,酶促作用产物有效磷是植物磷素营养源之一;过氧化氢酶和土壤有机质的转化速度有密切关系^[30]。土壤酶催化土壤中多种生化反应,增加了有机质的转化和无机养分的释放,驱动并影响土壤肥力的形成。

3.2 冬油菜根际土壤真菌提高土壤肥力和改良土壤微环境的生态效益

冬油菜是除冬小麦和冬豌豆之外重要的冬季覆盖作物^[31]。已有研究显示,冬油菜和冬小麦春季地上枯落物地表覆盖度分别可达 95.0%和 70.2%,有很好的覆盖效果^[32]。王学芳^[33]等模拟土壤风蚀模型,发现冬油菜比冬小麦具有更好的抗风蚀和减少土壤养分流失的效果。冬季覆盖农业技术是人们解决土壤风蚀问题、保护生态环境的重大创新与发明。种植冬油菜一方面可以避免春季播种土壤翻耕,减少耕作次数,减少沙尘源,另一方面实现冬油菜的周年覆盖,有效降低土壤风蚀造成的环境污染^[32–34]。前人研究表明,与常规耕作系统相比,在少耕或免耕条件下,真菌数量会更高,因为真菌的菌丝网络受到的破坏最小,并且对几丁质细胞壁的降解具有更强的抵抗力^[35]。真菌与细菌的比例较高表明土壤生态系统稳定,更接近未受干扰的土壤微生物群落。免耕系统能更好地建立真菌菌丝网络,这些菌丝网络可以有效地将养分转运到植物中^[36]。真菌还具有适应免耕系统中普遍存在的较冷和潮湿环境的优势^[37]。与常规耕作相比,免耕环境有利于菌根真菌 (Mycorrhizal fungi) 的丰度增加,通过促进大团聚体的形成和稳定,并通过养分的调动对维持土壤肥力方面发挥着至关重要的作用^[38]。本研究结果表明冬油菜根据土壤真菌数量明显增加,可能与土壤少耕和免耕有关,而优势门丰度的差异可能与不同类型冬油菜根系分泌物不同有关。

本研究结果还显示,种植白菜型和甘蓝型冬油菜可显著提高土壤酶活性,尤其是蔗糖酶、磷酸酶、和过氧化氢酶,通过促进有机质的转化进而增加速效磷、碱解氮的含量,同时调节 pH(降低土壤碱化),提高土壤肥力,改良土壤特性。且白菜型冬油菜蔗糖酶、磷酸酶、全磷、速效磷、碱解氮的含量均显著高于甘蓝型冬油菜。这是由于白菜型属于肉质根,甘蓝型属于木质根,到油菜成熟期白菜型的根更容易腐烂,能及时补充土壤养分的损耗,并通过微生物的作用调节土壤酶和土壤肥力,促进土壤有机质向植物可直接利用的养分转变。研究冬油菜、马铃薯、玉米、冬小麦、春小麦、蚕豆等 6 种主要农作物茬口土壤耕作层肥力效应,发现除固氮作物蚕豆茬口碱解氮含量较高外,冬油菜茬口土壤营养各项指标及土壤物理性状均显著优于其它作物茬口,其有机质、全氮、全磷、全钾、碱解氮、速效磷、速效钾含量均高于休闲田,冬油菜茬口土壤总孔隙度、毛管孔隙度和田间持水量分别有所提高^[39—40]。这些结果说明,种植冬油菜不但不会造成土壤养分的损耗,反而可以补充土壤肥力,改良土壤理化性质,是一种用地养地作物,是很好的茬口作物。

现代农业措施如广泛的耕作、利用化肥农药、单作影响土壤微生物群落和土壤的可持续性,然而种植冬油菜可以通过减少土壤耕作次数,降低对土壤真菌网络的破坏,同时根系分泌物影响真菌群落的组成,真菌驱动土壤酶活性的增加,可以转化土壤养分向植物直接能够利用的营养物质转化,如碱解氮、速效磷含量增加,弥补土壤养分的消耗和流失,来降低农药化肥的使用量,并可以降低土壤碱化程度,维持了土壤的持续性和可利用性。因此种植冬油菜具有很好的生态效益。

4 结论

本研究结果表明,种植白菜型和甘蓝型冬油菜能够提高土壤微生物量碳、氮、磷的含量,改变收获期根际土壤真菌群落组成和结构,显著增加子囊菌门、担子菌门、被孢菌门、壶菌门、毛霉门、油壶菌门等真菌的丰度,进一步通过影响蔗糖酶、磷酸酶、过氧化氢酶等土壤酶的活性促进土壤有机质的转化,从而增加全磷、碱解氮、速效磷等土壤肥力,同时可以调节土壤酸碱度,且白菜型的效果优于甘蓝型,具有很好的生态作物。研究结果为油菜—土壤—微生物互作研究及筛选分离益生真菌提供理论参考,为进一步扩大冬季覆盖作物的种植面积,推动农业提质增效和改善我国北方生态环境具有重要意义。

参考文献(References):

- [1] 刘海卿,孙万仓,刘自刚,王治江,方园,武军艳,李学才,方彦. 北方寒旱区白菜型冬油菜的越冬安全性及经济效益和生态效益. 应用生态学报, 2015, 26(10): 3035-3044.
- [2] 王丹英,彭建,徐春梅,赵锋,章秀福. 油菜作绿肥还田的培肥效应及对水稻生长的影响. 中国水稻科学, 2012, 26(1): 85-91.
- [3] Fernández L A, Agaras B, Wall L G, Valverde C. Abundance and ribotypes of phosphate-solubilizing bacteria in Argentinean agricultural soils under no-till management. Annals of Microbiology, 2015, 65(3): 1667-1678.
- [4] Mendes R, Garbeva P, Raaijmakers J M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. FEMS Microbiology Reviews, 2013, 37(5): 634-663.
- [5] Nivellet E, Verzeaux J, Habbib H, Kuzyakov Y, Decocq G, Roger D, Lacoux J, Duclercq J, Spicher F, Nava-Saucedo J E, Catterou M, Dubois F, Tetu T. Functional response of soil microbial communities to tillage, cover crops and nitrogen fertilization. Applied Soil Ecology, 2016, 108: 147-155.
- [6] Mangalassery S, Mooney S J, Sparkes D L, Fraser W T, Sjögersten S. Impacts of zero tillage on soil enzyme activities, microbial characteristics and organic matter functional chemistry in temperate soils. European Journal of Soil Biology, 2015, 68: 9-17.
- [7] Delgado-Baquerizo M, Oliverio A M, Brewer T E, Benavent-González A, Eldridge D J, Bardgett R D, Maestre F T, Singh B K, Fierer N. A global atlas of the dominant bacteria found in soil. Science, 2018, 359(6373): 320-325.
- [8] Bian X B, Yang X H, Li Q, Sun X. Effects of planting of two common crops, *Allium fistulosum* and *Brassica napus*, on soil properties and microbial communities of ginseng cultivation in Northeast China. BMC Microbiology, 2022, 22(1): 182.
- [9] 王东,杨新元,赵燕昊,叶晨洋,黄振兴,甘毅. 油料作物与根际微生物相互作用研究进展. 浙江农林大学学报, 2023, 40(5): 1139-1148.
- [10] 焦锦堂,孙万仓,方彦,陈其鲜,崔小茹,缪纯庆,白静,安丽容,雒兴刚,万海元,陶肖蕾,王旺田,杨刚,马骊,武军艳. 冬油菜覆盖对土壤理化性状及微生物的影响. 干旱地区农业研究, 2023, 41(6): 128-139.
- [11] 李青山,王梦姣,刘洁然. 不同时期油菜根际土壤微生物群落结构多样性及其差异. 北方园艺, 2023(24): 72-80.
- [12] 杜坤,王婷,杨阳,李金萍,王幼平. 转 mEPSPS 基因甘蓝型油菜对根际土壤细菌群落结构和多样性的影响. 中国油料作物学报, 2021, 43(1): 131-140.

- [13] 张敏, 孙宝利, 宋阿琳, 梁永超, 于冰, 范分良. 微生物多样性对土壤氮磷钾转化、酶活性及油菜生长的影响. 生态学报, 2016, 36(18): 5856-5864.
- [14] Guo Q, Wen Z M, Zheng C, Li W, Fan Y M, Zhu D J. Effects of *Robinia pseudoacacia* on the undergrowth of herbaceous plants and soil properties in the Loess Plateau of China. Journal of Plant Ecology, 2021, 14(5): 896-910.
- [15] Roberts T L, Ross W J, Norman R J, Slaton N A, Wilson C E Jr. Predicting nitrogen fertilizer needs for rice in Arkansas using alkaline hydrolyzable-nitrogen. Soil Science Society of America Journal, 2011, 75(3): 1161-1171.
- [16] Zhang C, Liu G B, Xue S, Wang G L. Soil bacterial community dynamics reflect changes in plant community and soil properties during the secondary succession of abandoned farmland in the Loess Plateau. Soil Biology & Biochemistry, 2016, 97: 40-49.
- [17] 刘爽, 王雅, 刘兵兵, 刘海龙, 刘勇. 晋西北不同土地管理方式对土壤碳氮、酶活性及微生物的影响. 生态学报, 2019, 39(12): 4376-4389.
- [18] 林少颖, 曾瑜, 陈金梅, 谢宇, 陈梅春, 王维奇. 施用秸秆和生物炭的茉莉园土壤微生物量及细菌多样性的差异. 环境科学学报, 2023, 43(8): 383-395.
- [19] Magoč T, Salzberg S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. Bioinformatics, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [20] Wang Y Y, Guo H, Gao X G, Wang J H. The intratumor microbiota signatures associate with subtype, tumor stage, and survival status of esophageal carcinoma. Frontiers in Oncology, 2021, 11: 754788.
- [21] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner F O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. Nucleic Acids Research, 2013, 41(D1): D590-D596.
- [22] 孙万仓, 刘自刚, 周冬梅, 张仁陟. 北方冬油菜北移与区划. 北京: 科学出版社, 2016.
- [23] 李学才, 金姣姣, 马骊, 武军艳, 陈其鲜, 曾瑞, 曾秀存, 崔小茹, 孙万仓. 北方强冬性甘蓝型冬油菜生长锥与抗寒性的关系研究. 中国油料作物学报, 2022, 44(4): 739-750.
- [24] Ma L, Qi W L, Bai J, Li H Y, Fang Y, Xu J, Xu Y Z, Zeng X C, Pu Y Y, Wang W T, Liu L J, Li X C, Sun W C, Wu J Y. Genome-wide identification and analysis of the ascorbate peroxidase (APX) gene family of winter rapeseed (*Brassica rapa* L.) under abiotic stress. Frontiers in Genetics, 2022, 12: 753624.
- [25] 刘海卿, 李静, 刘海霞, 王燕琴, 周莹莹, 张忠财, 苏芸芸, 孙于卜, 孙万仓. 北方寒旱区甘蓝型冬油菜的春化特性与抗寒性. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2024, 52(9): 1-10. DOI: 10.13207/j.cnki.jnwf.2024.09.007.
- [26] 甘国渝, 陈佛文, 邹家龙, 何洁, 陈伟, 高旭园, 李继福. 长期不同养分缺乏对冬油菜土壤微生物群落组成及多样性的影响. 中国土壤与肥料, 2022(4): 37-46.
- [27] 刘荣贵, 邓茂桦, 张瀚文, 郑蓉, 唐仲龙, 王超, 王剑峰. 内生真菌对醉马草不同生长期土壤酶活性和养分的影响. 草地学报, 2024, 32(6): 1770-1778.
- [28] 闫妮, 桑毅振, 王明钦, 喻景权, 胡永军, 周艳虹, 贾松峰, 汪敏. 生物炭和丛枝菌根真菌对番茄幼苗生长及土壤性质的影响. 农业开发与装备, 2023, (12): 137-140.
- [29] 卢萌菲, 陈胜, 刘小珍, 滕天欣, 陈水红. 布顿大麦内生真菌扩张对土壤酶活和养分的影响. 生物学杂志: 2023, 12: 1-8. DOI: 34.1081.Q.20231220.1545.006.html.
- [30] 任梓欢, 王忠武, 康慧, 付净瑶, 孟浦嘉, 韩国栋. 模拟降水对内蒙古短花针茅荒漠草原土壤酶活性的影响. 草地学报, 2024, 32(5): 1339-1347.
- [31] 任慧, 丁磊, 赵财. 不同冬季覆盖作物轮作对农田土壤碳氮影响. 中国农学通报, 2021, 37(35): 57-64.
- [32] 孙万仓, 裴新梧, 马骊, 王学芳, 武军艳, 李学才, 蒲媛媛, 刘丽君, 柴鹏, 李孝泽, 贾玉娟, 王积军, 刘芳, 陈其鲜, 沈金雄. 我国北方冬季覆盖作物研究进展及发展前景. 中国农业科技导报, 2022, 24(1): 128-136.
- [33] 王学芳, 孙万仓, 李芳, 康艳丽, 蒲媛媛, 刘红霞, 曾潮武, 范重秀. 中国西部冬油菜种植的生态效应评价. 应用生态学报, 2009, 20(3): 647-652.
- [34] Ma L, Wang X F, Pu Y Y, Wu J Y, Coulter J A, Li X C, Wang L J, Liu L J, Fang Y, Niu Z X, Yue J L, Bai J, Zhao Y H, Jin J J, Chang Y, Sun W C. Ecological and economic benefits of planting winter rapeseed (*Brassica rapa* L.) in the wind erosion area of Northern China. Scientific Reports, 2019, 9: 20272.
- [35] Waring B G, Averill C, Hawkes C V. Differences in fungal and bacterial physiology alter soil carbon and nitrogen cycling: insights from meta-analysis and theoretical models. Ecology Letters, 2013, 16(7): 887-894.
- [36] Helgason T, Gislason J, McClements D J, Kristbergsson K, Weiss J. Influence of molecular character of chitosan on the adsorption of chitosan to oil droplet interfaces in an *in vitro* digestion model. Food Hydrocolloids, 2009, 23(8): 2243-2253.
- [37] Drijber R, Doran J, Parkhurst A, Lyon D. Changes in soil microbial community structure with tillage under long-term wheat-fallow management. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32(10): 1419-1430.
- [38] Gupta A, Singh U B, Sahu P K, Paul S, Kumar A, Malviya D, Singh S, Kuppasamy P, Singh P, Paul D, Rai J P, Singh H V, Manna M C, Crusberg T C, Kumar A, Saxena A K. Linking soil microbial diversity to modern agriculture practices: a review. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2022, 19(5): 3141.
- [39] 李学才, 马骊, 武军艳, 刘丽君, 蒲媛媛, 方彦, 孙万仓. 西北黄土区主要作物茬口对土壤理化性质和冬油菜农艺性状的影响. 干旱地区农业研究, 2022, 40(6): 185-191, 200.
- [40] 杨刚, 孙万仓, 王丽萍, 慕平, 刘自刚, 李学才, 杨宁宁, 孔德晶, 鲁美宏. 北方旱寒区冬油菜不同后茬作物根际与非根际土壤肥力研究. 干旱地区农业研究, 2015, 33(3): 55-61.