

生物炭对华北冬小麦根系形态和内生真菌多样性的影响

李瑞霞^{1,2} 李洪杰³ 霍艳丽⁴ 高悦¹ 杨正礼¹ 张爱平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. 山东省德州市农业科学院, 德州 253015; 4. 河北北方学院基础医学院, 张家口 075000)

摘要: 利用棉花秸秆生物炭,以冬小麦为试验对象,采用根系扫描法和 Illumina MiSeq 高通量测序技术探讨研究农田秸秆还田,施生物炭分别为 4.5、9.0、13.5 t/hm² 后根系形态与内生真菌多样性的影响及其共生机制。试验结果表明,在生物炭施用量为 4.5~13.5 t/hm² 时,在冬小麦成熟期提高初生根的直径和比根长,降低分支密度和生物量;降低次生根分支密度。在门水平,生物炭显著提高根内子囊菌门(Ascomycota)丰度,显著降低接合菌门(Zygomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)和未鉴定杂菌(unidentified fungus)丰度,对球囊菌门影响不显著;在常见目水平,生物炭明显提高格孢菌目(Pleosporales)丰度,显著降低散囊菌目(Eurotiales)和被孢霉目(Mortierellales)丰度。在 4.5~9.0 t/hm² 时,生物炭通过降低初生根内散囊菌目真菌丰度,促进初生根分支密度和生物量的生长;通过提高次生根内格孢菌目真菌丰度,抑制次生根直径和分支密度的生长。经综合比较,9.0 t/hm² 的生物炭处理对根系形态的优化效果优于其他处理,与对照处理相比,在成熟期,初生根直径和比根长分别提高 5.00%、33.57%,分支密度和生物量分别降低 67.26%、27.27%;次生根直径和分支密度分别降低 13.16%、34.38%。

关键词: 冬小麦; 生物炭; 初生根; 次生根; 内生真菌; 多样性

中图分类号: S156.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2018)03-0235-08

Effect of Biochar on Root Morphology and Endophytic Fungal Diversity of Winter Wheat in North China

LI Ruixia^{1,2} LI Hongjie³ HUO Yanli⁴ GAO Yue¹ YANG Zhengli¹ ZHANG Aiping¹

(1. Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

2. College of Tourism, Hebei University of Economics and Business, Shijiazhuang 050061, China

3. Dezhou Academy of Agricultural Sciences in Shandong Province, Dezhou 253015, China

4. College of Basic Medical, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China)

Abstract: The winter wheat was selected to study the effect of biochar of cotton straw on root morphology and endophytic fungal communities by using the method of root scanning and Illumina MiSeq high-throughput sequencing. The symbiosis mechanism was found by the test. The treatments were amount of 4.5 t/hm², 9.0 t/hm² and 13.5 t/hm² of straw biochar, respectively applied to the soil, and the straw returning was taken as test control in the field experiment. The results showed that root diameter and specific root length were increased significantly, and branching density and biomass were decreased significantly in the primary root, and only the root branching density was decreased in the secondary root, when the amount of biochar was 4.5 ~ 13.5 t/hm² in the mature period of winter wheat. At the fungal phyla level, the abundance of Ascomycota was increased significantly, and the abundances of Zygomycota, Chytridiomycota and unidentified fungus was reduced greatly, and the abundance of Glomeromycota was not significant. At the common fungal order level, the abundance of Pleosporales was increased significantly, and the abundance of Eurotiales and Mortierellales was reduced greatly. With the amount of 4.5 ~ 9.0 t/hm² biochar promoted the primary root growth of root branch density and biomass by decreasing the abundance of Eurotiales, and inhibited the secondary root growth of diameter and branch density by increasing the abundance of Pleosporales. By comprehensive comparison, the effect of

收稿日期: 2017-08-03 修回日期: 2017-09-12

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

amount of 9.0 t/hm² biochar on root morphology was better than that of other treatments. The treatment with amount of 9.0 t/hm² significantly increased the primary root diameter by 5.00% and specific root length by 33.57%, and decreased root branch density by 67.26% and biomass by 27.27%, while also reduced the secondary root diameter by 13.16% and branch density by 34.38%, compared with the test control at maturity stage of winter wheat.

Key words: winter wheat; biochar; primary root; secondary root; endophytic fungus; diversity

0 引言

华北平原是我国重要的粮食产区,冬小麦-夏玉米秸秆还田是该区秸秆利用的主要方式。大量试验结果表明,秸秆直接还田有效改善土壤结构、促进作物生长和提高土壤固碳减排能力^[1],但也导致作物出苗率下降^[2-3]以及病虫害增加^[4-5]等风险。近年来,秸秆炭化还田作为促进农业低碳循环和可持续发展的新型还田方式日益成为学术界的研究热点。

内生真菌是指在其生活史的部分或全部阶段生活于植物组织内,对植物没有引起明显病害症状的真菌^[6]。丛枝菌根真菌是大多数陆生植物和根内真菌的共生体^[7],可促进宿主植物的生长和发育。有关生物炭对其的影响已有大量研究,结果表明生物炭可增强作物根部真菌繁殖能力,提高菌根真菌侵染量^[8-13]。内生真菌影响植物生长性状的特点与菌根真菌类似,如促进植物营养生长、增强光合作用、增加生物量(产量)、提高在逆境中的生存能力^[14-15]以及增加对磷的吸收和贮存^[16-18]。内生真菌存在相对减少了丛枝菌根真菌对植物的贡献^[19],还可能影响根的构型和生物量。研究发现,内生真菌降低了AMF侵染率和根的生物量^[20],内生真菌侵染导致高羊茅根毛增长,根半径减小^[16]。小麦是我国第二大粮食作物,研究内生真菌与根共生关系,对于发掘利用对小麦有益的内生真菌资源,控制潜在有害内生真菌,促进小麦高产稳产具有重要意义。

小麦根系由初生根和次生根组成,其建成时期和功能各异。小麦的初生根分布深,对小麦的抗旱能力起着至关重要的作用^[21-23],尤其在亏缺灌溉下,初生根对生育后期供水起决定性作用^[24]。小麦的次生根分布浅,在拔节至孕穗期间主要吸收利用浅层水^[24]。贾银锁等^[25]通过¹⁵N示踪技术对小麦不同单位根系特性、功能的研究表明,尽管小麦生长后期,次生根系的生长占了主导地位,但是初生根的作用仍然不能忽视。在土壤系统中,生物和非生物因子共同调控作物根系构型。目前,从根系类型角度研究小麦根系与内生真菌的共生机制对生物炭的响应尚未见报道。因此,本研究以冬小麦为研究对象,以常规秸秆还田为对照,对比研究不同生物炭用

量对冬小麦根系形态和内生真菌多样性的影响及其共生机制,旨在确定施用生物炭的最佳比例,为生物炭在农田土壤改良和小麦绿色生产应用提供科学依据。

1 试验材料与方法

1.1 试验设计

试验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547.50 mm,主要集中在6—8月,年平均气温12.90℃,平均无霜期为206 d,年积温4 639℃。施用生物炭前试验田耕层(0~20 cm)有机质质量比13.17 g/kg,碱解氮、有效磷和速效钾质量比分别为26.56、34.27、106 mg/kg,pH值为8.54。所用生物质炭以棉花秸秆为原料烧制,由山东省济南宸铭环卫设备有限公司提供。该生物质炭全氮、全磷、全钾质量比分别为4.88、0.83、15.98 g/kg,pH值为7.78。

采用田间试验法,以常规秸秆粉碎翻压还田(还田量15 891.98 kg/hm²)为对照(CK),设3个处理:C1(4.5 t/hm²)、C2(9.0 t/hm²)和C3(13.5 t/hm²)。冬小麦播前玉米秸秆全部移除,施入生物炭后旋耕。采取随机区组设计,3次重复,每个小区长宽为15 m×6 m,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,供试冬小麦品种为济麦22,2015年11月6日播种,2016年6月5日收获。采用机械播种,播种量为300 kg/hm²,行距为17.5 cm。各处理冬小麦季施氮(N)和磷(P₂O₅)分别为315、270 kg/hm²,其中氮肥按照基肥和拔节期追肥1:1比例施入,磷肥做底肥一次性施入。灌水、除草和喷药等措施同常规田间管理。

1.2 测定方法

1.2.1 根系形态测定

冬小麦成熟期根系开始老化,SUN等^[26]研究发现,较老的植物组织由于发生表皮降解等变化,而有利于内生真菌侵染过程的实现,故而选择冬小麦成熟期,在每个小区中间部位随机选取生长均匀一致的植株,以茎干为中心,1/2行距处,用平板利铲挖(长宽深分别为20、17.5、20 cm)3个土块,根系样品用清水洗净,每个土块选择5株完整根系。按照根

系生长发育部位分为初生根和次生根两部分,采用 WinRHIZO(Pro2005c)型根系扫描仪及其数据分析软件,结合 Epson Expression10 000 XL 图像扫描系统对根系平均直径、总根长和分支数进行分析。扫描完后,按照根系分类进行标记,用滤纸包好,在 65℃ 下干燥至恒质量,用电子天平(±0.000 1 g)称量。比根长指单位根系质量的根长(单位:m/g),分支密度是指单位根长上的分枝数(单位:枝/cm)。

1.2.2 根系内生真菌 ITS 高通量测序

将采集到的冬小麦根系,用自来水冲洗干净,将根表面水分用滤纸吸干,按生长发育部位分为初生根和次生根,分别浸泡于 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℃ 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。

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^[27]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/>)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“未分类真菌门”。根据物种注释结果,选取在门(Phylum)和优

势目(Order)分类水平上各物种相对丰度分布做柱形图。利用 mothur 软件(version 1.31.2)计算内生真菌多样性指数,Chao1 丰富度指数计算公式为

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

式中 S_{obs} ——检测到的所有 OTU 总数

N_1 ——只有一条序列的 OTU 数目

N_2 ——只有两条序列的 OTU 数目

Shannon 多样性指数计算公式为

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

式中 n_i ——各分类单元中包含的序列数

N ——所有数列之和

1.3 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,采用 Duncan 多重检验法对各个处理在 0.05 水平进行差异显著性检验。采用 Canoco for Window 4.5 进行 RDA 冗余分析,揭示不同类型根系形态与其内生真菌群落组成的关系。

2 结果与分析

2.1 生物炭对冬小麦成熟期根系形态和生物量的影响

冬小麦初生根与次生根的形态和生物量对生物炭的响应见表 1。初生根总根长、直径和生物量明显低于次生根,初生根比根长却明显高于次生根。分支密度在对照中两类根差异不显著,但在生物炭处理中初生根明显低于次生根。可见,两类根系生长特性不同,对生物炭的响应也存在差异。

表 1 不同处理下根系形态和生物量

Tab.1 Root morphology and biomass in different treatments

根系类型	处理	总根长/cm	直径/mm	分支密度/(枝·cm ⁻¹)	比根长/(m·g ⁻¹)	生物量/g
初生根	CK	345.80 ± 18.61 ^{ay}	0.20 ± 0.01 ^{by}	1.68 ± 0.07 ^{ax}	320.08 ± 47.93 ^{cx}	0.011 ± 0.00 ^{ay}
	C1	354.75 ± 4.89 ^{ay}	0.22 ± 0.01 ^{ay}	0.58 ± 0.01 ^{by}	406.81 ± 11.22 ^{bx}	0.009 ± 0.00 ^{by}
	C2	358.76 ± 5.78 ^{ay}	0.21 ± 0.01 ^{ay}	0.55 ± 0.04 ^{by}	427.54 ± 14.03 ^{bx}	0.008 ± 0.00 ^{by}
	C3	353.36 ± 7.97 ^{ay}	0.21 ± 0.00 ^{ay}	0.28 ± 0.01 ^{cy}	539.52 ± 83.03 ^{ax}	0.007 ± 0.00 ^{by}
次生根	CK	710.64 ± 25.29 ^{bx}	0.38 ± 0.02 ^{ax}	1.60 ± 0.05 ^{ax}	119.36 ± 3.55 ^{ay}	0.06 ± 0.00 ^{bx}
	C1	716.11 ± 8.70 ^{bx}	0.35 ± 0.02 ^{abx}	0.87 ± 0.05 ^{cx}	110.40 ± 12.98 ^{ay}	0.07 ± 0.01 ^{bx}
	C2	718.19 ± 7.83 ^{bx}	0.33 ± 0.03 ^{bx}	1.05 ± 0.07 ^{bx}	110.68 ± 6.29 ^{ay}	0.07 ± 0.00 ^{bx}
	C3	766.04 ± 14.13 ^{ax}	0.36 ± 0.02 ^{abx}	1.12 ± 0.05 ^{bx}	74.77 ± 4.72 ^{by}	0.10 ± 0.01 ^{ax}

注:数据形式为平均值 ± 标准差,a,b 代表不同处理之间的差异性,x,y 代表不同类型根系之间的差异性,下同。

由表 1 可知,各处理初生根总根长与对照差异不显著;次生根总根长仅 C3 处理显著高于对照处理 7.80%。C1、C2、C3 处理的初生根直径显著高于对照 10%、5%、5%;仅 C2 处理次生根直径显著低于对照 13.16%,而 C1、C3 处理均与对照处理差异

不显著。C1、C2、C3 处理中两类根分支密度显著低于对照处理,其中初生根降幅分别为 65.48%、67.26%、83.33%,次生根降幅分别为 30.00%、34.38%、45.63%。C1、C2、C3 处理中初生根比根长显著高于对照处理 27.10%、33.57%、68.56%;仅

C3 处理中次生根比根长显著低于对照处理 37.35%, C1、C2 处理与对照处理差异不显著。C1、C2、C3 处理中初生根生物量显著低于对照处理 18.18%、27.27%、36.36%; C3 处理次生根生物量显著高于对照处理 66.67%, 而 C1、C2 处理与对照处理差异不显著。

由表 2 可知, 生物炭施用量 4.5 ~ 9.0 t/hm² 时,

冬小麦产量显著增加 19.49% ~ 28.14%, 其中 C2 处理的有效穗数和产量均显著高于对照处理, 分别增加 10.60%、28.14%。生物炭施用量 4.5 ~ 13.5 t/hm² 的各处理下穗粒数和千粒质量出现增加趋势, 但均未达到显著水平。可见, 施用生物炭提高有效穗数、穗粒数和千粒质量是增产的主要原因, 说明适宜的生物炭施用量对提高冬小麦产量有重要作用。

表 2 不同处理下冬小麦产量和产量构成因素

Tab. 2 Winter wheat yield and its components in different treatments

处理	有效穗数/(万个·hm ⁻²)	穗粒数/个	千粒质量/g	产量/(kg·hm ⁻²)
CK	463.43 ± 34.71 ^b	31.77 ± 1.37 ^a	48.90 ± 0.26 ^a	5785.67 ± 167.01 ^c
C1	466.68 ± 12.09 ^{ab}	32.03 ± 1.39 ^a	49.23 ± 0.45 ^a	6914.29 ± 53.33 ^b
C2	512.58 ± 28.29 ^a	32.90 ± 1.95 ^a	49.60 ± 0.44 ^a	7415.24 ± 55.24 ^a
C3	451.57 ± 22.00 ^b	32.27 ± 1.21 ^a	48.40 ± 0.44 ^a	6085.71 ± 175.09 ^c

2.2 生物炭对冬小麦成熟期根内生真菌多样性和群落组成的影响

由表 3 可知, 与对照处理相比, C1、C2 处理降低了两类根内丰富度 Chao1 指数, 但未达到显著水平, 仅 C3 处理显著降低两类根内 Chao1 指数。生物炭

显著降低了两类根内生真菌多样性 Shannon 指数。比较初生根与次生根内生真菌丰富度 Chao1 指数发现, 各处理中差异均不显著。多样性 Shannon 指数在 CK 中初生根显著低于次生根, 在 C1、C2 处理中初生根显著高于次生根, C3 处理中两者差异不大。

表 3 不同处理根系内真菌群落多样性指数

Tab. 3 Root endophytic fungal community diversity index in different treatments

处理	初生根		次生根	
	Chao1	Shannon	Chao1	Shannon
CK	553.93 ± 42.23 ^{ax}	5.58 ± 0.05 ^{ay}	547.37 ± 9.31 ^{ax}	6.12 ± 0.06 ^{ax}
C1	493.70 ± 3.32 ^{ax}	5.34 ± 0.09 ^{bx}	511.50 ± 49.11 ^{ax}	5.10 ± 0.08 ^{by}
C2	445.13 ± 22.94 ^{abx}	5.20 ± 0.11 ^{bx}	485.36 ± 21.06 ^{ax}	4.62 ± 0.26 ^{cy}
C3	363.34 ± 27.90 ^{bx}	4.45 ± 0.23 ^{cx}	290.31 ± 22.27 ^{bx}	4.75 ± 0.16 ^{bex}

图 1 为两类根各处理在门和目 2 个分布水平的真菌群落的丰度。由图 1a 可知, 在门分布水平上构成冬小麦灌浆后期初生根内的优势真菌群落为子囊菌门, 占初生根全部群落的 74.76%。其他为担子菌门(Basidiomycota)、接合菌门、壶菌门和球囊菌门。与对照处理相比, C1、C2 处理使子囊菌门丰度显著提高了 40.21%、46.20%, C3 处理仅提高

3.37%, 与对照差异不显著。C3 处理担子菌门丰度显著高于对照 120.59%, 而 C1、C2 处理却分别显著低于对照处理 57.85%、58.62%。同时, 施用生物炭极大地降低了接合菌门、壶菌门和未鉴定杂菌丰度, 对球囊菌门丰度影响不大。在常见目分布水平上, 对照处理优势菌是肉座菌目(Hypocreales)、粪壳菌目(Sordariales)和格孢菌目, 丰度分别占

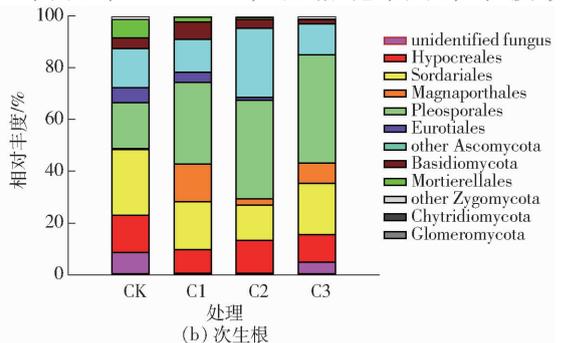
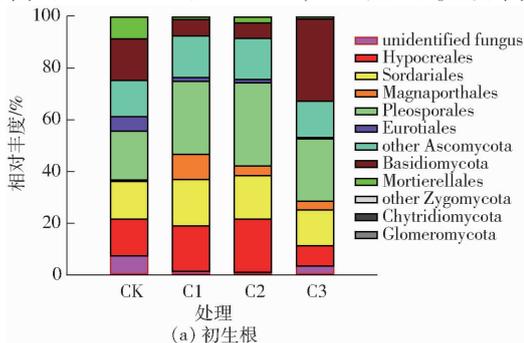


图 1 不同处理根系内生真菌门和目水平(子囊菌门和接合菌门的常见目)相对丰度

Fig. 1 Proportions of root endophytic fungal phyla and common fungal orders within Ascomycota and Zygomycota in different treatments

12.69%、13.15%、16.94%；而 C1、C2、C3 处理优势菌均是格孢菌目，丰度分别为 26.52%、31.82%、23.97%。与对照处理相比，C1、C2 处理显著提高了肉座菌目、粪壳菌目、巨座壳目 (Magnaporthales) 和格孢菌目丰度，C3 处理仅显著提高巨座壳目和格孢菌目丰度；C1、C2、C3 处理显著降低了散囊菌目和被孢霉目丰度，其中 C3 处理还显著降低了肉座菌目丰度。

由图 1b 可知，冬小麦次生根中内生真菌群落组成同初生根。在门分布水平上次生根中的优势菌门也为子囊菌门，占次生根全部群落的 88.47%。与对照处理相比，C1、C2、C3 处理的子囊菌门丰度显著提高 16.40%、21.62%、19.08%。C2 处理的担子菌门丰度比对照显著提高 66.34%，C1、C3 处理分别显著降低 17.82%、68.32%。施用生物炭还显著降低接合菌门、壶菌门和未鉴定杂菌丰度，对球囊菌门丰度影响不大，与初生根中表现一致。在常见目分布水平上，对照处理优势菌，粪壳菌目丰度占 25.06%；而 C1、C2、C3 处理优势菌目均是格孢菌目，丰度分别为 31.40%、37.81%、41.80%。与对照处理相比，C1、C2、C3 处理显著提高格孢菌目丰度，而 C1、C3 处理还显著提高了巨座壳目丰度；C1、C2、C3 处理显著降低了散囊菌目和被孢霉目丰度，而 C1、C2 处理还显著降低了粪壳菌目丰度，C1、C3 处理显

著降低了肉座菌目丰度。

2.3 生物炭处理下冬小麦成熟期根系形态和内生真菌菌群丰度的相关性

RDA 分析如图 2 所示，其中 As: Ascomycota; Ba: Basidiomycota; Zy: Zygomycota; Chy: Chytridiomycota; Gl: Glomeromycota; Un: Unidentified fungus; Hy: Hypocreales; So: Sordariales; Ma: Magnaporthales; Pl: Pleosporales; Eu: Eurotiales; Mo: Mortierellales; TL: 总根长; D: 直径; B: 生物量; RBD: 分支密度; SRL: 比根长; T: 处理 (黑色字体代表根系形态, 红色字体代表根内生真菌)。表明在门水平上，初生根内生真菌群落可以解释同类根系形态变异的 9.69%；在常见目分布水平上，可以解释根系形态变异的 10.31%。经蒙特卡洛 999 次检验可知，初生根形态受接合菌门、散囊菌目和被孢霉目真菌的显著影响。由图 2a 可知，初生根内接合菌门、散囊菌目和被孢霉目真菌丰度与初生根分支密度和生物量呈显著正相关，与总根长、直径和比根长呈显著负相关。在门水平上，次生根内生真菌群落可以解释同类根系形态变异的 14.26%；在常见目水平，可以解释根系形态变异的 9.36%。经蒙特卡洛 999 次检验可知，次生根形态受格孢菌目和散囊菌目真菌的显著影响。由图 2b 可知，次生根内格孢菌目真菌丰度与生物量呈显著正相关，与直径、分支密度和比根长呈显著负相关。

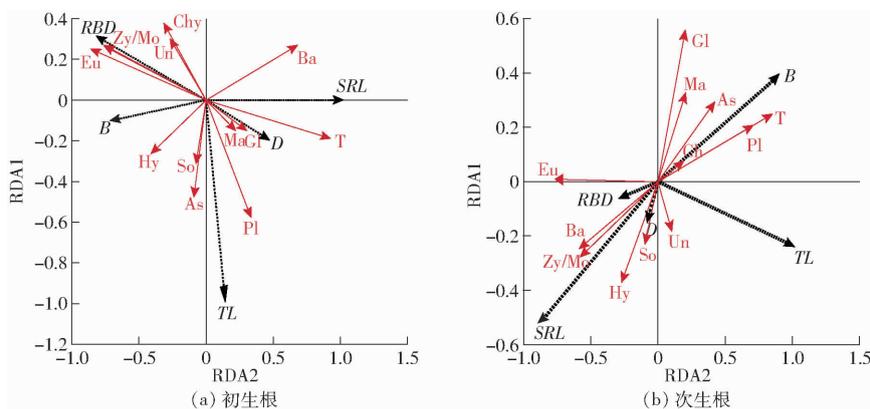


图 2 根系形态指标和内生真菌群落结构的 RDA 分析

Fig. 2 RDA analysis between root morphology index and proportions of root endophytic fungal community structure

3 讨论

3.1 生物炭对冬小麦根系形态和生物量的影响

本研究发现，施用生物炭后两类根的总根长变化不大，分支密度降低，说明增加了单根长度。施用生物炭后冬小麦初生根直径明显变大，延缓了生育后期根系衰亡，有利于提高初生根对深层水分和养分的转运效率。仅 C2 处理次生根直径显著减小，寿命缩短，提升了吸收能力。初生根和次生根的结

构优化，有利于增强后期根系对水分、养分等物质的持续供应能力，促进地上部生物量积累和产量形成。这与李中阳等^[28]通过田间试验发现，生物质炭各处理对拔节期冬小麦根系平均直径、总根长和总表面积的增加均有促进作用的结果不同。这可能与小麦所处的生育时期、土壤类型和生物炭类型以及生物炭用量不同有关。

本研究发现，施用生物炭导致初生根比根长显著增加，次生根比根长降低。说明生物炭增强了初

生根吸收水分养分能力,降低了次生根吸收水分养分能力。本研究中生物炭施用量 9.0 t/hm^2 时,在成熟期初生根生物量降低,直径缩小,加快了次生根死亡速度,说明适宜施用生物炭减少了成熟期根的生长冗余,使光合产物更多地向籽粒分配。这与张伟明等^[29] 研究生物炭可能降低水稻灌浆期的根冠比,有利于提高根系吸收效率,促进地上部植株生长的结果类似。李中阳等^[28] 研究发现,生物炭对冬小麦的有效穗数、穗粒数和千粒质量的提高均有促进作用,以 40 t/hm^2 的处理增产最多,但随着生物炭施用量的增加,产量反而有所降低,但仍然高于对照处理,这与本研究结果一致。生物炭施用量 13.5 t/hm^2 时,导致次生根总根长和生物量明显增加,需要消耗大量的光合产物,故而导致产量降低。有研究表明,生物炭应用在砂质和砂质壤土不仅增加根生物量,而且通过优化根系结构,形成发达根系,提高了抗干旱能力^[30]。可见,适量的生物炭通过优化根系形态对作物产量的增加起到促进作用。

3.2 生物炭对根内真菌群落组成和多样性的影响

Chao1 指数评估的根内真菌菌群丰富度,初生根和次生根均为 C3 处理的最小,C1、C2 处理与对照处理差异不显著。Shannon 指数评估了根内真菌菌群多样性,生物炭显著降低了两类根内真菌多样性 Shannon 指数,初生根内 C3 处理最小,次生根内 C2 与 C3 处理差异不显著,相对较小。

施用不同比例生物炭条件下初生根和次生根内真菌群落结构变化规律一致,表现为施用生物炭显著提高了子囊菌门丰度,显著降低接合菌门、壶菌门和未鉴定杂菌丰度,对球囊菌门丰度影响不大。初生根内担子菌门真菌丰度在生物炭用量 $4.5 \sim 9.0 \text{ t/hm}^2$ 处理中显著降低,在生物炭施用量 13.5 t/hm^2 时显著升高;次生根内担子菌门丰度在生物炭用量 4.5 t/hm^2 和 13.5 t/hm^2 处理中显著降低,在生物炭施用量 9.0 t/hm^2 时显著升高。在常见目水平,生物炭显著提高初生根内子囊菌门中巨座壳目和格孢菌目丰度,显著提高次生根内格孢菌目丰度,同时显著降低两类根内子囊菌门中散囊菌目、接合菌门中被孢霉目真菌丰度。在初生根内,在生物炭施用量 $4.5 \sim 9.0 \text{ t/hm}^2$ 时,还显著提高了肉座菌目和粪壳菌目真菌丰度;在生物炭施用量 13.5 t/hm^2 时,显著降低了肉座菌目丰度。在次生根内,子囊菌门中巨座壳目丰度在生物炭施用量 4.5 t/hm^2 和 13.5 t/hm^2 处理中均升高,粪壳菌目丰度在生物炭用量 $4.5 \sim 9.0 \text{ t/hm}^2$ 处理中均降低,肉座菌目丰度在生物炭用量 $9.0 \sim 13.5 \text{ t/hm}^2$ 处理中均降低。生物炭对根内真菌影响的研究主要集中在 AM 真菌,对根内其他

真菌研究较少。

冗余分析表明,初生根内子囊菌门内散囊菌目和接合菌门及其被孢霉目真菌丰度与同类根的分支密度和生物量显著正相关,与其总根长、直径和比根长显著负相关。说明上述真菌能促进冬小麦成熟期的初生根分支密度和生物量增长,却抑制初生根总根长、直径和比根长增长。本研究中施用生物炭显著降低小麦成熟期初生根内上述真菌丰度,优化初生根形态,促进了成熟期初生根对养分和水分的吸收利用。次生根内子囊菌门的格孢菌目真菌丰度与生物量显著正相关,与直径、分支密度和比根长显著负相关。说明格孢菌目真菌促进次生根生物量增长,抑制直径、分支密度和比根长生长。本研究中施用生物炭显著提高了次生根内格孢菌目真菌丰度,由于此时小麦成熟,次生根组织开始老化,有利于格孢菌目真菌生长繁殖,故此时次生根生物量有增加趋势。研究发现,在生物炭用量 13.5 t/hm^2 时,次生根生物量显著增加,使光合产物向根系分配的比例增加,却不利于地上部籽粒灌浆。另外,本试验中还存在一些不足,试验仅关注了生物炭对根系内生真菌群落结构的变化影响,忽略了根系内生细菌、根际微生物以及土壤理化性质对根系形态产生的作用。因此,通过利用根系-内生真菌互利共生,合理施用生物炭,改善土壤环境,还有待进一步开展田间长期定位研究。

4 结论

(1) 生物炭施用量 $4.5 \sim 13.5 \text{ t/hm}^2$ 时,在小麦成熟期显著降低初生根直径、分支密度和生物量,显著增加比根长,总根长变化不明显;同时显著降低次生根分支密度。其中生物炭施用量 9.0 t/hm^2 时,显著降低次生根直径;施用量 13.5 t/hm^2 时,显著提高次生根总根长和生物量,显著降低比根长。

(2) 生物炭施用量 $4.5 \sim 13.5 \text{ t/hm}^2$ 时,显著降低两类根多样性 Shannon 指数;仅生物炭施用量 13.5 t/hm^2 时,显著降低两类根丰富度 Chao1 指数。

(3) 在门水平上,生物炭施用量 $4.5 \sim 9.0 \text{ t/hm}^2$ 时,显著提高初生根子囊菌门丰度,显著降低担子菌门丰度。生物炭施用量 $4.5 \sim 13.5 \text{ t/hm}^2$ 时,显著降低两类根内接合菌门、壶菌门和未鉴定杂菌丰度,球囊菌门丰度变化不明显。在常见目水平,生物炭施用量 $4.5 \sim 9.0 \text{ t/hm}^2$ 时,显著提高初生根内子囊菌门中肉座菌目、粪壳菌目、巨座壳目和格孢菌目丰度,显著降低子囊菌门中散囊菌目和接合菌门内被孢霉目丰度。生物炭施用量 $4.5 \sim 13.5 \text{ t/hm}^2$ 时,显著提高次生根内子囊菌门中格孢菌目丰度,显著降

低子囊菌门中散囊菌目和接合菌门中被孢霉目丰度。

(4)生物炭施入土壤后,初生根内接合菌门、散囊菌目和被孢霉目真菌丰度对初生根形态方面的作用最为明显;次生根内格孢菌目和散囊菌目真菌对次生根形态的作用最为明显。

(5)经综合比较,9.0 t/hm²的生物炭处理效果最为明显,与对照处理相比,小麦成熟期分支密度和生物量分别显著降低 67.26%、27.27%,比根长和初生根直径显著提高 33.57%、5%;次生根直径和分支密度分别显著降低 13.16%、34.38%;有效穗数和产量的增加比例分别为 10.60%、28.14%。

参 考 文 献

- LAL R. Crop residues as soil amendments and feedstock for bioethanol production[J]. *Waste Management*, 2008, 28(4): 747–758.
- 强学彩. 秸秆还田量的农田生态效应研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2003.
QIANG Xuecai. Study on ecological effect in farm system of different amount of crop residues incorporation[D]. Beijing: China Agricultural University, 2003. (in Chinese)
- 李素娟, 陈继康, 陈阜, 等. 华北平原免耕冬小麦生长发育特征研究[J]. *作物学报*, 2008, 34(2): 290–296.
LI Sujuan, CHEN Jikang, CHEN Fu, et al. Characteristics of growth and development of winter wheat under zero-tillage in North China Plain[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34(2): 290–296. (in Chinese)
- QI Y, ZHEN W, LI H. Allelopathy of decomposed maize straw products on three soil-borne diseases of wheat and the analysis by GC-MS[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2015, 14(1): 88–97.
- 甄文超. 玉米秸秆还田对冬小麦土传病害影响的研究[C]//中国植物病理学会 2009 年学术年会论文集, 2009.
ZHEN Wenchao. The influence of maize straw amendment on the soil-borne disease of winter wheat[C]// Chinese Proceedings of the Annual Meeting of Chinese Society for Plant Pathology, 2009. (in Chinese)
- PETRINI O. Fungal endophytes of tree leaves[M]// ANDREWS J H, HIRANO S S. *Microbial ecology of leaves*. New York: Springer-Verlag, 1991: 179–197.
- SMITH S E, READ D J. *Mycorrhizal symbiosis*[M]. Cambridge, UK: Academic Press, 2008.
- WARNOCK D D, LEHMANN J, KUYPER T W, et al. Mycorrhizal responses to biochar in soil-concepts and mechanisms [J]. *Plant and Soil*, 2007, 300(1–2): 9–20.
- BLACKWELL P. Can biochar help drive biological farming? [J]. *Western Mineral Fertilisers*, 2008(8): 11.
- SOLAIMAN Z M, BLACKWELL P, ABBOTT L K, et al. Direct and residual effect of biochar application on mycorrhizal root colonisation, growth and nutrition of wheat[J]. *Australian Journal of Soil Research*, 2010, 48(7): 546–554.
- RILLIG M C, WAGNER M, SALEM M, et al. Material derived from hydrothermal carbonization: effects on plant growth and arbuscular mycorrhiza[J]. *Applied Soil Ecology*, 2010, 45(3): 238–242.
- HAMMER E C, BALOGH-BRUNSTAD Z, JAKOBSEN I, et al. A mycorrhizal fungus grows on biochar and captures phosphorus from its surfaces[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2014, 77: 252–260.
- BLACKWELL P, KRULL E, BUTLER G, et al. Effect of banded biochar on dryland wheat production and fertiliser use in south-western Australia: an agronomic and economic perspective[J]. *Australian Journal of Soil Research*, 2010, 48(7): 531–545.
- WALLER F, AEHATZ B, BALTRUSNATH H, et al. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, 102(38): 13386–13391.
- RODRIGUEZ R J, HENSON J M, VAN VOLKENBURGH E, et al. Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis[J]. *International Society for Microbial Ecology*, 2008, 2: 404–416.
- MALINOWSKI D P, ALLOUSH G A, BELESKY D P. Evidence for chemical changes on the root surface of tall fescue in response to infection with the fungal endophyte *Neotyphodium coenophialum*[J]. *Plant and Soil*, 1998, 205(1): 1–12.
- AZEVEDO M D, WEHY R E. A study of the fungal endophyte *Acremonium coenophialum* in the roots of tall fescue seedlings[J]. *Mycologia*, 1995, 87(3): 289–297.
- RAFUNAN M H, SAIGA S. Endophytic fungi (*Neotyphodium coenophialum*) affect the growth and mineral uptake, transport and efficiency ratios in tall fescue (*Festuca arundinacea*) [J]. *Plant and Soil*, 2005, 272(1–2): 163–171.
- BLANKE V, RENKER C, WANGER M, et al. Nitrogen supply affects arbuscular mycorrhizal colonization of *Artemisia vulgaris* in a phosphate polluted field site[J]. *New Phytologist*, 2005, 166(3): 981–992.
- OMACINI M, SEMMARTIN M, PEREZ L I, et al. Grass-endophytic symbiosis: a neglected aboveground interaction with multiple belowground consequences[J]. *Applied Soil Ecology*, 2012, 61: 273–279.
- 马元喜. 小麦的根[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- TYSLENKO A M. Effect of root number on yield in spring wheat[J]. *Byulleton Vsesoyuznogo Ordena Lenina Iordena Druzhby Narodov Institute Rastenievodstva ImeniI Vavibva*, 1981, 114: 15–17.
- TIHONOV V E. The role of the number of embryonic roots in spring bread wheats in the semidesert conditions of northern priarale [J]. *Byulleton Vsesoyuznogo Ordena Lenina Institute Rastenievodstva ImeniI Vavibva*, 1973, 33: 3–7.

- 24 薛丽华, 段俊杰, 王志敏, 等. 冬小麦调亏灌溉下次生根和初生根对植株生长的影响[J]. 华北农学报, 2010, 25(3): 87-91.
XUE Lihua, DUAN Junjie, WANG Zhimin, et al. The effect of secondary and seminal roots of winter wheat to plant growth under regulated deficit irrigation conditions[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2010, 25(3): 87-91. (in Chinese)
- 25 贾银锁, 张锦熙, 刘钊山, 等. 冬小麦不同单位根的功能及分组的研究[J]. 核农学报, 1990, 4(1): 25-30.
JIA Yinsuo, ZHANG Jinxi, LIU Yangshan, et al. Study on the functions of different unit-roots and the grouping of roots in winter wheat[J]. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica, 1990, 4(1): 25-30. (in Chinese)
- 26 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.
- 27 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.
- 28 李中阳, 齐学斌, 樊向阳, 等. 生物质炭对冬小麦产量、水分利用效率及根系形态的影响[J]. 农业工程学报, 2015, 31(12): 119-124.
LI Zhongyang, QI Xuebin, FAN Xiangyang, et al. Influences of biochars on growth, yield, water use efficiency and root morphology of winter wheat[J]. Transactions of the CSAE, 2015, 31(12): 119-124. (in Chinese)
- 29 张伟明, 孟军, 王嘉宇, 等. 生物炭对水稻根系形态与生理特性及产量的影响[J]. 作物学报, 2013, 39(8): 1445-1451.
ZHANG Weiming, MENG Jun, WANG Jiayu, et al. Effect of biochar on root morphological and physiological characteristics and yield in rice[J]. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39(8): 1445-1451. (in Chinese)
- 30 ABIVEN S, HUND A, MARTINSEN V, et al. Biochar amendment increases maize root surface areas and branching: a shovelomics study in Zambia[J]. Plant Soil, 2015, 395: 45-55.
- 31 李发虎, 李明, 刘金泉, 等. 生物炭对温室黄瓜根际土壤真菌丰度和根系生长的影响[J/OL]. 农业机械学报, 2017, 48(4): 265-270, 341. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20170434&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2017.04.034.
LI Fahu, LI Ming, LIU Jinqun, et al. Effect of biochar on fungal abundance of rhizosphere soil and cucumber root growth in greenhouse[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2017, 48(4): 265-270, 341. (in Chinese)
- 32 李明, 胡云, 黄修梅, 等. 生物炭对设施黄瓜根际土壤养分和菌群的影响[J/OL]. 农业机械学报, 2016, 47(11): 172-178. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20161123&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2016.11.023.
LI Ming, HU Yun, HUANG Xiumei, et al. Effect of biological carbon on nutrient and bacterial communities of rhizosphere soil of facility cucumber[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2016, 47(11): 172-178. (in Chinese)