中国生态农业学报 2018 年 4 月 第 26 卷 第 4 期
Chinese Journal of Eco-Agriculture, Apr. 2018, 26(4): 526−537

**DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.170517**

胡振兴, 刘灵, 陈丽萍, 陈明爱, 陈玲. 干旱胁迫下丛枝菌根对大豆抗氧化代谢及根围微生物的影响[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(4): 526−537

HU Z X, LIU L, CHEN L P, CHEN M A, CHEN L. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on antioxidant metabolism and rhizospheric micro-organism of soybean (*Glycine max*) under drought stress[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(4): 526−537

# 干旱胁迫下丛枝菌根对大豆抗氧化代谢及根围微生物的影响*

胡振兴[1,2], 刘 灵[1,2**], 陈丽萍[2], 陈明爱[2], 陈 玲[2]

(1. 广西师范大学 珍稀濒危动植物生态与环境保护教育部重点实验室 桂林 541004; 2. 广西师范大学生命科学学院 桂林 541004)

**摘 要:** 丛枝菌根真菌(AMF)可促进作物营养吸收和提高抗逆性, 成为寄主抵御干旱胁迫的有效途径。为探明 AMF 提高大豆抗旱性的机制, 以‘桂春豆 103’为材料接种幼套近明囊霉(*Claroideoglomus etunicatum*, 简写为 C.e), 研究干旱条件下 C.e 对田间大豆叶抗氧化酶及根围土中 C/N/P 循环相关酶活性等的影响, 并用变性梯度凝胶电泳等方法探索土壤微生物群落结构的变化。结果表明: 干旱处理前, 接种 C.e(+AM)处理大豆 SOD、POD 活性及游离脯氨酸(FP)含量, 磷酸酶、蔗糖酶和脲酶活性, 土壤细菌、真菌和放线菌数量及物种多样性、丰富度和群落均匀度指数, 大豆生物量和株高均显著高于(−AM)处理($P<0.05$), MDA 含量显著降低($P<0.05$)。干旱(D)处理后, +AM+D 处理的上述各项指标, 除 MDA 含量比−AM+D 或+AM 处理分别显著降低或升高($P<0.05$), FP 含量比两处理显著提高($P<0.05$)外, 其余指标值及细菌和真菌 rDNA 条带数均比−AM+D 处理显著升高, 比+AM 处理显著下降($P<0.05$)。−AM+D 与−AM 处理的细菌和真菌群落均分别聚类于两不同分支, +AM 与+AM+D 处理聚于同一分支。可见, +AM+D 处理能显著促进大豆抗氧化酶系统活性, 维持较强的活性氧清除和渗透调节能力, 缓解干旱对土壤酶活性的抑制, 保持较高的细胞膜稳定性、土壤微生物数量和群落多样性, 有利于 C/N/P 循环转化, 提高抗旱性, 最终促进大豆生长。本研究可为促进农业生态系统可持续发展奠定基础。

**关键词:** 大豆; 丛枝菌根真菌; 干旱胁迫; 抗氧化代谢; 根围土壤微生物

**中图分类号:** S565.1; S154.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2018)04-0526-12

# Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on antioxidant metabolism and rhizospheric micro-organism of soybean (*Glycine max*) under drought stress*

HU Zhenxing[1,2], LIU Ling[1,2**], CHEN Liping[2], CHEN Ming’ai[2], CHEN Ling[2]

(1. Key Laboratory of Ecology of Rare and Endangered Species and Environmental Protection,(Guangxi Normal University), Ministry of Education, Guilin 541004, China; 2. College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

**Abstract:** Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) not only improves nutrient absorption, but also enhances the resistance of host

* 广西自然科学基金项目(2013GXNSFAA019094)、广西高校科学技术研究重点项目(ZD2014015)和桂林市科学研究与技术开发计划项目(20120119-4)资助

** 通信作者: 刘灵, 主要研究方向为植物生理与微生物生态学。E-mail: ll904@163.com
胡振兴, 主要研究方向为植物营养与环境生态。E-mail: huzx1985@163.com

收稿日期: 2017-06-05 接受日期: 2018-01-09

* This study was supported by the Natural Science Foundation of Guangxi (2013GXNSFAA019094), the Key Program of Science and Technology of Guangxi Universities (ZD2014015) and the Scientific Research and Technical Development Plan Program of Guilin (20120119-4).

** Corresponding author, E-mail: ll904@163.com

Received Jun. 5, 2017; accepted Jan. 9, 2018

plant to stress such as drought. AMF inoculation has become one of the effective ways to resist drought stress. To explore the drought resistance mechanism of soybeans (*Glycie max*) inoculated with AMF, an experiment involving soybean variety 'Guichundou 103' as material was conducted. After inoculation with *Claroideoglomus etunicatum* (C.e), the effects of C.e on activities of antioxidant enzymes and C/N/P-cycle-related enzymes were investigated by collecting rhizospheric soil of soybean under drought stress. The changes in bacterial and fungal community diversities in rhizospheric soil were analyzed by denaturing gel gradient electrophoresis (DGGE) and other technologies. The results showed that activities of SOD, POD, sucrase, urease and phosphatase, free proline (FP) content, number and indexes of Shannon-Wiener diversity, richness and evenness of microorganisms in rhizospheric soil, as well as biomass and plant height of soybean with C.e inoculation (+AM) treatment were significantly higher than those without C.e inoculation (−AM) treatment under normal water supply condition. On the contrary, MDA content decreased significantly. Under drought stress (+D), MDA content with +AM treatment was lower and higher than that with −AM+D and +AM treatment, respectively. FP content was both higher than those of two treatments. The other indexes mentioned above along with band numbers of rDNA fragments of rhizospheric soil bacteria and fungi population were significantly higher than those with −AM+D treatment, and lower than those with +AM treatment. The bacterial and fungal communities of rhizospheric soil of −AM and −AM+D treatments belonged to different groups, while those of +AM treatment were clustered together with those of +AM+D treatment. In conclusion, +AM+D treatment obviously promoted the activities of antioxidant enzyme system, alleviated inhibition of drought on soil enzyme activities, kept high stability of cell membrane system, retained high population number and microbial structure diversity, promoted circulation and transformation of C, N and P in rhizospheric soil, improved drought resistance and effectively stimulated soybean growth. These results will lay a critical foundation for promoting sustainable development of agroecological systems.

**Keywords:** Soybean (*Glycie max*); Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF, *Claroideoglomus etunicatum*); Drought stress; Antioxidant metabolism; Rhizospheric soil microorganism

大豆(*Glycie max* L. Merr.)为短生长周期经济作物，也是对水分亏缺最敏感的一种豆科作物[1]，其根瘤结构有生物固氮功能，可改善土壤肥力。近年来，在广西等喀斯特地区，由于气候的不稳定性和时空降水的不均匀性导致干旱频繁发生，成为当地农业生产的重要限制因素[2]。

丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)可与地球上 90%以上的陆生植物根系共生形成丛枝菌根[3]。通过其庞大的地下菌丝网扩大吸收面积，自身释放或刺激寄主植物释放土壤酶等物质来高效吸收土壤中 N 和 P 等养分并传递给植物[4-5]，植物以约 20%的光合产物与之交换。为此，每年约有 50 亿 t 光合产物被 AMF 固定在土壤中，对生态系统的 C/N 平衡起重要作用。此外，水分胁迫下，AMF 通过增加渗透调节物质[6]，降低叶水势，减少自由基的产生和细胞膜系统损伤[7]，提高 ABA 含量，调控水孔蛋白(MIPs)、晚期胚胎富集蛋白(LEA)[8-9]等相关基因的方式改善水分供应和维持能力[10-11]，提高净光合速率[12]，最终提高抗旱性，促进植物生长[13-14]，并在植物群落构建和稳定性方面起关键作用[15]。

土壤微生物是土壤有机质与养分循环、转化和能量流动的动力，被称为地球元素生物地球化学循环的引擎[16]。其群落组成和生物学活性受土壤类型及施肥等因素影响[17]。土壤酶活性与土壤微生物的数量和活性密切相关，对二者的研究有助于理解和揭示土壤养分循环特征及机制[18-19]。有研究表明，外接 AMF 后黄瓜(*Cucumis sativus* L.)根际土壤真菌、细菌数量增加，放线菌数量减少，土壤微生物多样性降低；磷酸酶、脲酶和蔗糖酶活性提高，土壤速效养分含量提高[20]；AMF 可平衡作物根际土壤微生物种群结构和土壤酶活力，改善土壤微生态，提高土壤养分利用率，改善植株营养状况等[21]。

AMF 可通过改变土壤微生物群落结构影响植物-土壤体系间的物质交流[5]，三者间存在复杂的互作，土壤无机环境影响 AMF 与土壤微生物间的互作。AMF 并不总是表现出对植物营养的促进作用。养分亏缺时，微生物与植物间为竞争关系。AMF 与根瘤菌和放线菌有协同增效作用，也有抑制氨氧化细菌减少 $N_2O$ 释放等功能。近年来，利用菌根生物技术提高干旱环境中植物的生产力已成为研究热点[22]，但对喀斯特干旱地区大豆根围土壤酶、微生物群落结构对 AMF 的响应及大豆抗旱机理的研究还不够深入。本研究运用变性梯度凝胶电泳(DGGE)等方法，探索在持续干旱胁迫下，AMF 对大豆抗氧化代谢、土壤酶活性及根围土壤微生物群落多样性的影响，分析喀斯特地区菌根化大豆对干旱的生理响应及抗旱性提高的机制，为最终提高大豆产量，促进农田土壤生态系统可持续发展提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料与研究地概况

试验大豆品种为‘桂春豆 103’，为广西农业科学院经济作物研究所新育的较耐旱品种。幼套近明囊霉（*Claroideoglomus etunicatum*，简写为 C.e)购自北京市农林科学院植物营养与资源研究所“丛枝菌根真菌种质资源库(BGC)”，编号为 BGC-NM01B。田间试验在广西师范大学雁山生物园(25.5°N, 110.16°E)内进行。试验用地总面积为 25 m×23 m。年降水量为 1 915.2 mm，年蒸发量为 1 378.3 mm，年平均气温为 18 ℃。

### 1.2 试验设计

试验设计分为接种C.e菌剂与不接种C.e菌剂两个组别，同时每组各设干旱与正常浇水处理。设接种 C.e 正常浇水(+AM)、接种 C.e 干旱(+AM+D)、不接种 C.e 正常浇水(–AM)、不接种 C.e 干旱(–AM+D)共 4 个处理，每处理重复 3 次。小区面积为 5.5 m×7.33 m。地块间大沟宽 1 m，小沟宽 0.5 m，实际共 484 $m^2$。各处理随机区组排列。大豆于 2016 年 3 月 15 日播种，播种沟深 5 cm，行距 35 cm，株距 15 cm(即每块地 15 行，48 株·行$^{-1}$)。在两行大豆中间挖 3 cm 深的施肥沟，施 375 g·$m^{-2}$ 有机肥和 37.5 g·$m^{-2}$ 磷肥与土混匀作基肥。同时，在距施肥沟 10 cm 处即距大豆种植沟 7.5 cm 处，种植沟两侧各挖 15 cm 深的接种沟，按 240 g·行$^{-1}$ 的量在接种沟中均匀撒入混有 C.e 的根段、泡囊、孢子等菌根结构的混合菌剂，与表土混匀后覆盖。对照处理加相应同等质量已灭菌的混合菌剂。其余常规田间管理。

根样采集：2016 年 6 月 1 日取根样。采集前先用消毒小铲除去土壤表层 5 cm 以上杂物，小心挖出大豆植株，注意不要伤及根部。轻轻去除附着在根系上的泥土，采集幼嫩细根，装入含 2/3 体积的 FAA 固定液的带盖离心管中固定后，标记待测。根样染色、制片同前法[23]，菌根侵染率测定用曲利苯蓝染色法[24]。镜检确认根段菌根侵染强度达 60%以上时表示菌根发育良好，可进行后续干旱试验。

干旱处理：选择大豆鼓粒期适宜的天气(预报 3 周内均为晴天，2016 年 6 月 10 日)开始干旱。设正常浇水和干旱两处理。用 QT-SWO1 土壤墒情速测仪测定土壤含水量。正常浇水处理每天定时喷洒地块保持 20 cm 深田间土壤相对湿度(SRH)在 65%~70%；干旱处理开始时，相对应的 SRH 为 55%~60%，持续约 15 d，最终 SRH 达 35%~40%(中重度干旱)时恢复正常供水。

### 1.3 样品采集

连续自然干旱 15 d 时，在每处理地块中随机挑选健康大豆植株 5 株(非边行防边际效应)，分别取相同叶位的叶 5 片，用干净的塑料自封袋装好。每处理 3 个重复共 15 片，标记后，置冰盒中迅速带回实验室，立即测定抗氧化酶活性等指标；同时蛇形采样法分 5 点在各小区采集各处理土壤样本。每点在距大豆植株 1 cm 处，小铲除去表层 5 cm 土壤，取 5~25 cm 深度根围土壤各 250 g 左右，过 0.2 cm 土壤筛后，同一处理地块中 5 个点土样混匀，按四分法取样共 0.5 kg，分成两等分各 0.25 kg，一份置于 4 ℃冰箱用于生理指标测定，一份置于–40 ℃冰箱用于微生物群落研究。每处理均设 3 个重复共 1.5 kg。

大豆成熟时同叶法采集完整植株，尽量避免伤及根系。测量株高后，将大豆根系上泥土除去，分别测量整株和根系鲜重，烘干至恒重后再测量整株和根系干重。

### 1.4 测定指标及方法

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性分别采用氮蓝四唑法、愈创木酚法测定，丙二醛(MDA)含量用硫代巴比妥酸(TBA)法测定，游离脯氨酸含量(FP)采用磺基水杨酸法测定。可培养微生物数量用稀释平板计数法，土壤蔗糖酶、脲酶和磷酸酶活性分别用 3,5-二硝基水杨酸比色法、苯酚钠-次氯酸钠比色法和磷酸苯二钠比色法测定[25]。均为 3 个重复。

土壤微生物群落研究采用 PCR-DGGE 分析。DGGE 试验时，由于凝胶泳道数量的限制，同一处理各重复土壤等量混匀后再进行分析。土壤 DNA 提取参照 OMEGA Soil DNA Kit (D5625-01)试剂盒说明书操作。土壤细菌 16S rDNA V3 高变区的 PCR 扩增采用引物对：GC-338f(5′-CGCCCGCCGCGCGCGGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGGCCTACGGGAGGCAGCAG-3′)，518R(5′-ATTACCGCGGCTGCTGG-3′)；土壤真菌 18S rDNA 基因扩增采用引物对：GC-Fung (5′-CGCCCGCCGCGCCCCGCGCCCGGCCCGCCGCCCCCGCCCCATTCCCCGTTACCCGTTG-3′)，NS1(5′-GTAGTCATATGC TGTCTC-3′)。

DGGE：用 Bio-Rad 公司 Dcode$^{TM}$ 基因突变检测系统对纯化后的 PCR 产物进行分离。细菌 16S rDNA 在变性剂浓度范围为 35%~65%(100%变性为 7 mol·$L^{-1}$ 尿素和 40%去离子甲酰胺)的 8%聚丙烯酰胺凝胶中 150 V 电泳 7 h；真菌 18S rDNA 在变性剂浓度范围为 20%~50%的 10%聚丙烯酰胺凝胶中 100 V 电泳 14 h。电泳结束后，凝胶银染 15min，用 GE 公

司 Image ScannerⅢ扫描仪扫描拍照, Quantity One 4.62 软件对 DGGE 图谱进行自动数字化处理和聚类分析。条带多样性数据中多样性($H$)、丰富度($S$)和均匀度($E_H$)指数计算参照罗海峰等[26]方法。

### 1.5　数据处理

使用 Microsoft Excel 和 SPSS 19.0 对数据进行方差分析和绘图, 柱形图上方小写字母表示邓肯氏新复极差方差分析结果, 不同小写字母表示处理间差异显著($P$<0.05)。

## 2　结果与分析

### 2.1　干旱胁迫下 AMF 对大豆细胞膜脂过氧化及渗透调节能力的影响

由图 1 可见, 与不接种(–AM)处理相比, 接种 C.e(+AM)处理大豆叶片 SOD、POD 活性及游离脯氨酸(FP)含量(图 1A, 1B, 1C)显著提高, 尤其 FP 含量, +AM 处理的平均值比–AM 处理平均高 64%, 差异显著($P$<0.05)。干旱胁迫(D)下, 无论接菌与否, SOD、POD 活性均显著下降, +AM+D 处理显著高于–AM+D 处理, MDA(图 1D)与 FP 含量均显著增长。+AM+D 处理的 FP 含量最高。–AM+D 处理的 MDA 含量最高, +AM 处理最低, +AM+D 和–AM 处理间无显著差异。综上所述, 干旱胁迫下, 接种 C.e(+AM+D)处理显著提高保护酶 SOD、POD 活性和渗透调节物质(如 FP)含量, 降低 MDA 积累。

### 2.2　干旱胁迫下 AMF 对大豆根围土壤酶活性的影响

由图 2 可见, +AM 处理大豆根围土壤磷酸酶、蔗糖酶及脲酶(图 2A、2B、2C)活性均比–AM 处理显著提高, 例如蔗糖酶活性平均值, +AM 处理比–AM 处理高 73%。干旱胁迫下, 各处理上述 3 种土壤酶活性均显著降低且–AM+D 处理最低($P$<0.05)。与–AM 处理相比, +AM+D 处理的磷酸酶、蔗糖酶和脲酶活性分别为不显著降低、显著增高和显著降低。

### 2.3　干旱胁迫下 AMF 对大豆根围土壤中可培养微生物数量的影响

细菌、真菌和放线菌是土壤微生物群落中最主要的三大类群, 土壤中可培养微生物数量能大致表征土壤微生态状况。从表 1 可见, 与–AM 处理比, +AM 处理大豆根围土壤中可培养细菌、放线菌和真菌均显著增加($P$<0.05), 且细菌数量最大; 干旱胁迫后, 与–AM 处理比, +AM+D 处理细菌数量仍显著增加, 放线菌和真菌数量均显著下降($P$<0.05)且真菌数量降低的程度较大。除真菌数量稍高差异不显著外, 细菌和放线菌数量+AM+D 处理均显著高于

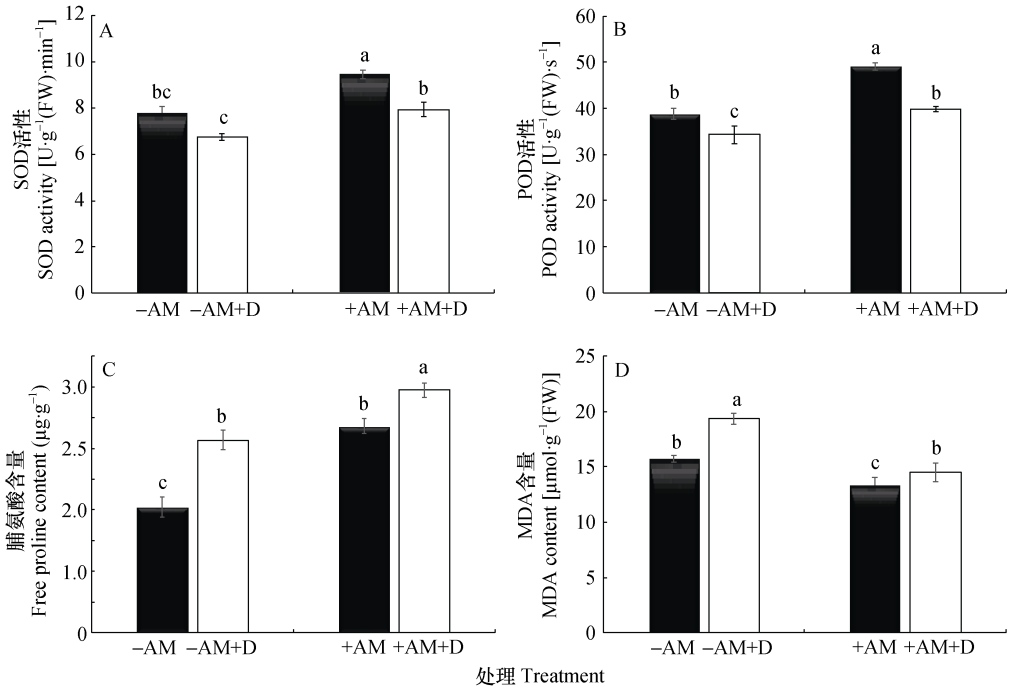


**图 1　干旱胁迫下接种丛枝菌根真菌对大豆叶片抗氧化酶活力及游离脯氨酸和 MDA 含量的影响**

Fig. 1　Influence of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi on activities of antioxidant enzymes and free proline and MDA contents in soybean leaves under drought stress

+AM: 接种 C.e 处理; +AM+D: 接种 C.e 干旱处理; –AM: 不接种 C.e; –AM+D: 不接种 C.e 干旱处理。不同小写字母表示处理间差异显著($P$<0.05)。+AM: arbuscular mycorrhizal fungi *Claroideoglomus etunicatum* inoculation; +AM+D: +AM and drought stress; –AM: no arbuscular mycorrhizal fungi; –AM+D: –AM and drought stress. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at $P$ < 0.05.

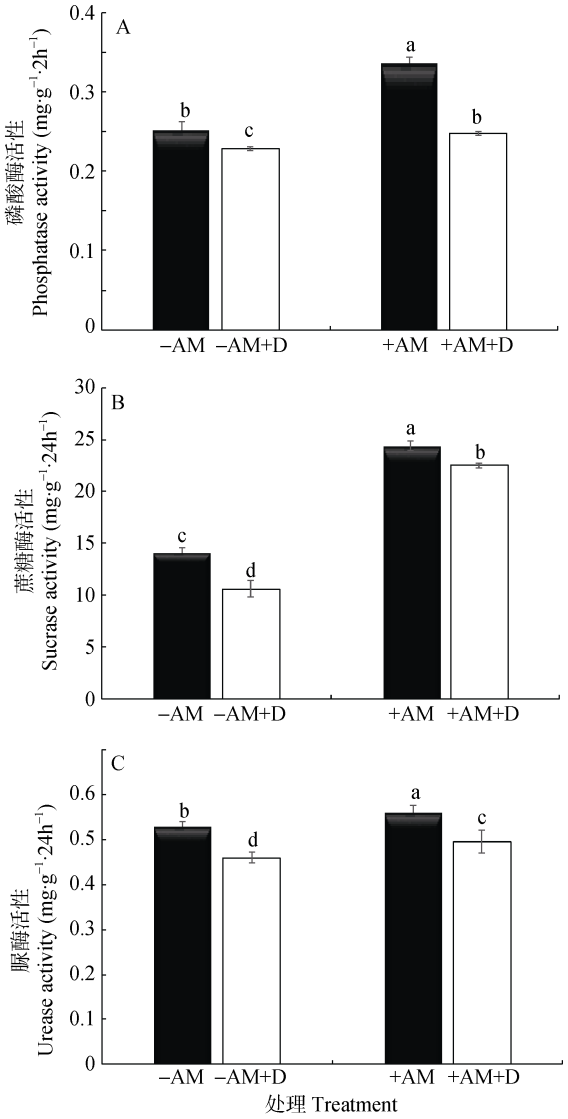


**图 2 干旱胁迫下接种丛枝菌根真菌对大豆根围土壤酶活性的影响**

Fig. 2 Influence of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi on enzymes activities in rhizospheric soil of soybean under drought stress

+AM: 接种 C.e 处理; +AM+D: 接种 C.e 干旱处理; −AM: 不接种 C.e; −AM+D: 不接种 C.e 干旱处理。不同小写字母表示处理间差异显著($P$<0.05)。+AM: arbuscular mycorrhizal fungi *Claroideoglomus etunicatum* inoculation; +AM+D: +AM and drought stress; −AM: no arbuscular mycorrhizal fungi; −AM+D: −AM and drought stress. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at $P$ < 0.05.

−AM+D 处理。可见, 干旱胁迫下, +AM+D 处理大豆根围可保持较高的细菌和放线菌数量, 但接种 C.e 对真菌数量影响不大。

### 2.4 干旱胁迫下 AMF 对大豆根围土壤微生物多样性的影响

#### 2.4.1 土壤细菌 DNA 的 DGGE 指纹图谱分析

理论上, DGGE指纹图谱中每个DNA条带对应土壤微生物群落中的1个菌群或可操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU), 条带数目越多则生物多样性程度越高; 条带染色后荧光强度越亮, 则该种属的细菌数量越多[27], 最终反映土壤中微生物的种类和数量。由图3A可见, 大豆根围土壤细菌16S rDNA PCR产物经DGGE电泳、染色后, 4个处理的DNA片段具不同的DGGE图谱特征, 不同处理样品所代表的泳道上条带位置、数量不同, 亮度各异。共分离出35个条带。其中, +AM、−AM、+AM+D和−AM+D处理所对应的泳道1至4上分别有条带31条、25条、26条和21条。图中既观察到共有条带, 也有特异条带(图3A中实线箭头表示)。例如包括条带5、15、17和35在内的共有条带说明这些条带所代表的土壤细菌菌群较稳定, 受接种和干旱处理影响较小。但条带亮度有差异, 说明这些条带所代表的细菌菌群在不同处理或同一处理样品中的种类和数量有差异; 而特异条带, +AM处理有4条, −AM处理和+AM+D处理分别各有1条, −AM+D处理有2条。可见, C.e处理大豆根围均有新优势细菌群落出现, 干旱处理抑制其出现。不同处理的泳道上均有减少的条带(图3A中虚线箭头表示)。与−AM处理比, +AM处理增加7条减少1条, 最终表现为增加6条带, +AM+D处理增加4条减3条最终为增加1条, −AM+D处理增加3条减少7条最终为减少4条。可见, 正常浇水条件下, +AM处理比−AM处理的细菌群落的种属和数量有较大增加; 干旱胁迫下, +AM+D处理比−AM+D处理减少4条但增加1条。最终+AM+D处理比−AM+D处理和−AM处理的条带数分别多5条和1条。可见, C.e处理可维持较多的细菌群落种属和数量, 群落结构较为稳定。

对细菌DGGE图谱进行UPGAMA聚类分析(图3B)发现, 4个处理共聚类成3支, +AM与+AM+D处理聚于同一分支, 两处理间细菌群落相似性高达84%, −AM+D与−AM处理间相似性仅76%且分别聚于2个分支。泳道带型相似度越高, 说明细菌群落结构越相似。一般认为相似性系数高于60%的两个群体才具有较好的相似性[28]。因此, +AM与+AM+D处理间大豆根围土壤细菌群落结构组成较为接近, 没有发生显著变化。

#### 2.4.2 土壤细菌群落生物多样性分析

根据DGGE图谱中16S rDNA条带数量与亮度值等参数计算出各处理的物种多样性($H$)、丰富度($S$)和群落均匀度指数($E_H$)。一般Shannon-Wiener($H$)指数值越大则细菌群落多样性程度越高[29]。$E_H$反映微生物群落在环境中的分布状况, 各处理细菌群落数

**表 1　干旱胁迫下接种丛枝菌根真菌对大豆根围土壤中可培养微生物数量的影响**

Table 1　Influence of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi on cultural microbial population of rhizospheric soil of soybean under drought stress

| 处理 Treatment | 细菌 Bacteria | | 放线菌 Actinomycetes | | 真菌 Fungi | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $\times10^5$ (CFU·g$^{-1}$) | % | $\times10^4$ (CFU·g$^{-1}$) | % | $\times10^3$ (CFU·g$^{-1}$) | % |
| +AM | 12.90±0.27a | 120.56 | 9.96±0.72a | 115.94 | 6.00±0.39a | 118.81 |
| +AM+D | 11.43±0.44b | 106.82 | 7.68±0.43c | 89.41 | 4.41±0.36de | 87.33 |
| −AM | 10.70±0.18c | 100.00 | 8.59±0.35b | 100.00 | 5.05±0.38bc | 100.00 |
| −AM+D | 9.93±0.23d | 92.80 | 6.93±0.26d | 80.68 | 4.08±0.58e | 80.79 |

+AM: 接种 C.e 处理; +AM+D: 接种 C.e 干旱处理; −AM: 不接种 C.e; −AM+D: 不接种 C.e 干旱处理。不同小写字母表示处理间差异显著($P$<0.05)。+AM: arbuscular mycorrhizal fungi *Claroideoglomus etunicatum* inoculation; +AM+D: +AM and drought stress; −AM: no arbuscular mycorrhizal fungi; −AM+D: −AM and drought stress. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at $P$ < 0.05.

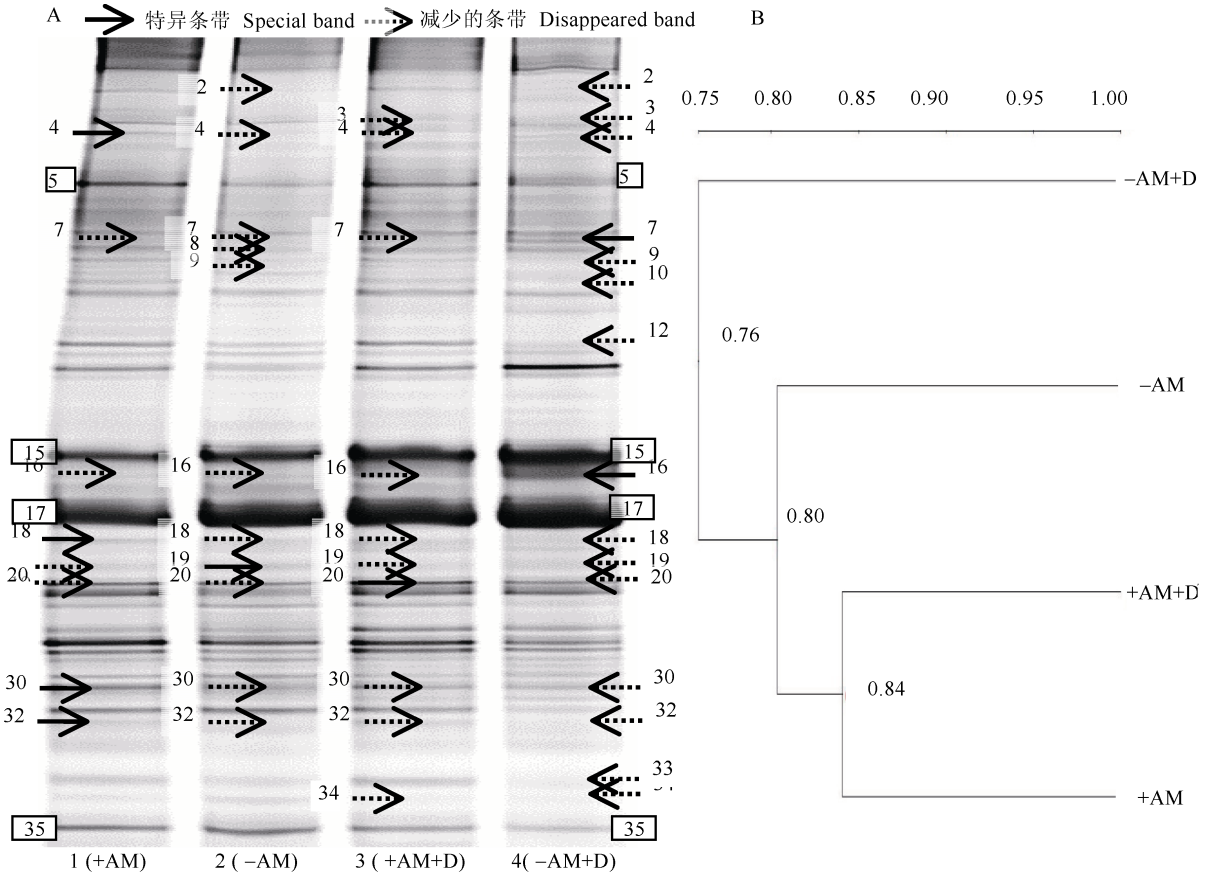


**图 3　大豆根围土壤细菌 16S rDNA PCR 产物的 DGGE 指纹图谱(A)及聚类分析图(B)**

Fig. 3　DGGE fingerprint profile (A) and diagram of cluster analysis (B) of PCR products of 16S rDNA fragments of bacteria from rhizospheric soil of soybean inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi under drought stress

+AM: 接种 C.e 处理; +AM+D: 接种 C.e 干旱处理; −AM: 不接种 C.e; −AM+D: 不接种 C.e 干旱处理。+AM: arbuscular mycorrhizal fungi *Claroideoglomus etunicatum* inoculation; +AM+D: +AM and drought stress; −AM: no arbuscular mycorrhizal fungi *Claroideoglomus etunicatum* inoculation; −AM+D: −AM and drought stress.

目越接近, 其数值越高[30]。从表 2 可知: 图谱中条带的 $H$、$S$ 指数均具相似的变化趋势, 表现为: +AM>−AM>+AM+ D>−AM+D。+AM 和+AM+D 处理比−AM 处理的 $H$ 分别增加 6.05%和减少 4.14%, $S$ 分别增大 19.23%与减少 7.69%。可见, +AM 处理细菌群落多样性和丰富度升高, +AM+D 比−AM 处理不显著降低, 比−AM+D 处理升高较多。+AM+D 和−AM+D 处理间细菌的 $E_H$ 稍下降。综合图 3 和表 2 结果可知, +AM+D 处理能维持较高的细菌物种多样性、丰富度和群落稳定性, 对群落均匀度影响不大。−AM+D 与−AM 处理间细菌群落结构差异较大。

**2.4.3　土壤真菌 DNA 的 DGGE 指纹图谱分析**

从 18S rDNA 基因 DGGE 图谱(图 4A)发现: 各处理大豆根围土壤真菌群落变化趋势同细菌相似, 共分离出 18 条条带。+AM、−AM、+AM+D 和−AM+D

表 2 干旱胁迫下接种丛枝菌根真菌对大豆根围土壤细菌 DGGE 条带的物种多样性、丰富度和均匀度指数的影响

Table 2 Influence of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi on indexes of Shannon-Wiener (*H*), richness (*S*) and evenness ($E_H$) of bacterial DGGE bands in rhizospheric soil of soybean under drought stress

| 处理 Treatment | 多样性指数 Diversity index | | 丰富度指数 Richness index | | 均匀度指数 Evenness index | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 数值 Value | % | 数值 Value | % | 数值 Value | % |
| +AM | 3.33 | 106.05 | 31 | 119.23 | 0.971 | 100.62 |
| +AM+D | 3.01 | 95.86 | 24 | 92.31 | 0.947 | 98.13 |
| −AM | 3.14 | 100.00 | 26 | 100.00 | 0.965 | 100.00 |
| −AM+D | 2.89 | 92.04 | 21 | 80.77 | 0.949 | 98.34 |

+AM: 接种 C.e 处理; +AM+D: 接种 C.e 干旱处理; −AM: 不接种 C.e; −AM+D: 不接种 C.e 干旱处理。不同小写字母表示处理间差异显著($P$<0.05)。+AM: arbuscular mycorrhizal fungi *Claroideoglomus etunicatum* inoculation; +AM+D: +AM and drought stress; −AM: no arbuscular mycorrhizal fungi; −AM+D: −AM and drought stress. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at $P$ < 0.05.

处理所对应泳道 1 至 4 分别有 15、13、11 和 9 条带。共有条带如条带 7、8 和 10 说明其代表的真菌菌群较稳定。各处理特有条带(图 4A 中实线箭头表示)不多, +AM 和−AM 处理分别有 4 条和 1 条, 其余处理无。说明这些真菌群落受干旱影响较大。各处理均有条带减少(图 4A 中虚线箭头表示)。正常浇水条件下, +AM 处理比−AM 处理增加的真菌群落的种属和数量较多。干旱胁迫下, +AM+D 处理与−AM+D 处理相比减少的真菌群落数量少, 最终+AM+D 处理泳道 3 的条带数分别比泳道 4 和 2 的分别增加和减少 2 条。可见, 干旱胁迫下 C.e 处理可维持较高的真菌群落种属和数量, 群落较为稳定。由图 4 可知, 真菌的聚类分析(图 4B)结果与细菌(图 3B)相似。+AM 和+AM+D 两处理间有 80%的相似性且聚于同一分支, −AM 和−AM+D 两处理间相似性仅 60%且聚于不同的分支。

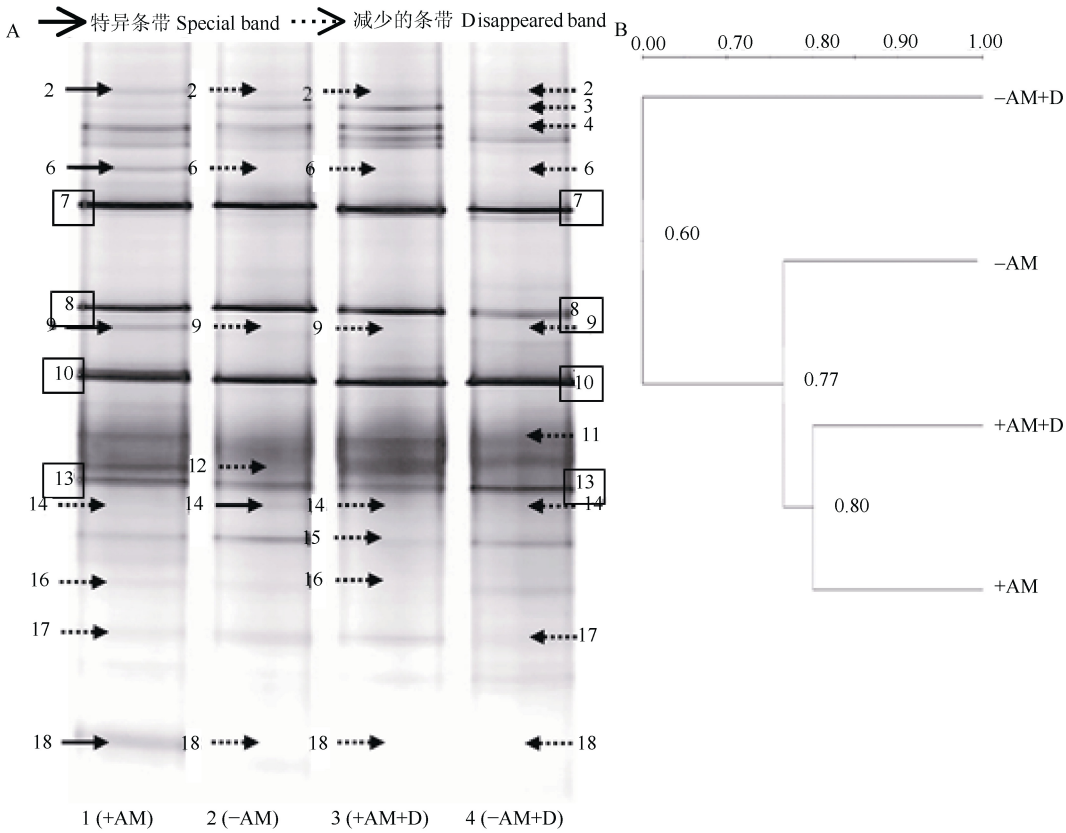


图 4 干旱胁迫和接种丛枝菌根真菌下大豆根围土壤真菌 18S rDNA PCR 产物的 DGGE 指纹图谱(A)及聚类分析图(B)

Fig. 4 DGGE fingerprint profile (A) and diagram of cluster analysis (B) of PCR products of 18S rDNA fragments of fungi from rhizospheric soil of soybean inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi under drought stress

+AM: 接种 C.e 处理; +AM+D: 接种 C.e 干旱处理; −AM: 不接种 C.e; −AM+D: 不接种 C.e 干旱处理。+AM: arbuscular mycorrhizal fungi *Claroideoglomus etunicatum* inoculation; +AM+D: +AM and drought stress; −AM: no arbuscular mycorrhizal fungi; −AM+D: −AM and drought stress.

#### 2.4.4　土壤真菌群落生物多样性分析

从表 3 可知, 各处理大豆根围土壤真菌 DNA 的 DGGE 图谱中条带的 *H* 和 *S* 指数变化趋势为: +AM>+AM+D>–AM>–AM+D。+AM 和+AM+D 处理比–AM 处理的 *H* 值分别增加 15.45%和 7.27%, *S* 值分别增大 40.00%与 30.00%。与细菌类似, +AM+D 处理可维持较高的土壤真菌种群物种多样性和丰富度, 但对各处理真菌群落均匀度影响不大。比较相同处理细菌(表 2)和真菌(表 3)的 *H*、*S* 指数变化, 发现–AM+D 和+AM+D 处理真菌的 *H*、*S* 值比相同处理细菌的略有降低或变化不显著。即干旱胁迫下, 不论接菌与否, 真菌均可维持较稳定的群落多样性。可见, 干旱处理对真菌群落多样性的抑制比细菌小, 而接种 C.e 处理对干旱真菌群落多样性的促进作用比细菌大。

**表 3**　干旱胁迫下接种丛枝菌根真菌对大豆根围土壤真菌 **DGGE** 条带的物种多样性、丰富度和均匀度指数的影响

Table 3　Influence of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi on indexes of Shannon-Wiener (*H*), richness (*S*) and evenness ($E_H$) of fungi DGGE bands in rhizospheric soil of soybean under drought stress

| 处理 Treatment | 多样性指数 Diversity index | | 丰富度指数 Richness index | | 均匀度指数 Evenness index | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 数值 Value | % | 数值 Value | % | 数值 Value | % |
| +AM | 2.54 | 115.45 | 15 | 140.00 | 0.94 | 97.92 |
| +AM+D | 2.36 | 107.27 | 13 | 130.00 | 0.92 | 95.83 |
| –AM | 2.20 | 100.00 | 10 | 100.00 | 0.96 | 100.00 |
| –AM+D | 1.98 | 90.00 | 8 | 80.00 | 0.95 | 98.96 |

+AM: 接种 C.e 处理; +AM+D: 接种 C.e 干旱处理; –AM: 不接种 C.e; –AM+D: 不接种 C.e 干旱处理。不同小写字母表示处理间差异显著($P$<0.05)。+AM: arbuscular mycorrhizal fungi *Claroideoglomus etunicatum* inoculation; +AM+D: +AM and drought stress; –AM: no arbuscular mycorrhizal fungi; –AM+D: –AM and drought stress. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$.

### 2.5　干旱胁迫下 AMF 对大豆植株生长的影响

从表 4 可知, +AM 处理大豆植株生物量和株高均显著高于–AM 处理; +AM+D 处理的生物量和株高比+AM 处理降低但仍显著高于–AM 处理。各处理间植株生物量差异显著, 而+AM+D 和+AM 两处理间株高差异不显著。

**表 4**　干旱胁迫下接种丛枝菌根真菌对大豆生长特征的影响

Table 4　Influence of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi on growth characteristics of soybean under drought stress

| 处理 Treatment | 株高 Height (cm) | 生物量 Plant biomass (g) |
|---|---|---|
| +AM | 68.135±2.163a | 82.513±2.615a |
| +AM+D | 63.482±2.375ab | 56.126±1.374b |
| –AM | 55.369±2.108c | 35.752±1.819c |

+AM: 接种 C.e 处理; +AM+D: 接种 C.e 干旱处理; –AM: 不接种 C.e。不同小写字母表示处理间差异显著($P$<0.05)。+AM: arbuscular mycorrhizal fungi *Claroideoglomus etunicatum* inoculation; +AM+D: +AM and drought stress; –AM: no arbuscular mycorrhizal fungi. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$.

## 3　讨论

中国干旱区、半干旱和半湿润易旱区面积占总国土面积 50%以上。在干旱和半干旱地区, 水分是限制生态系统生产力的重要因子[31]。包括广西在内的西南喀斯特地区降水分布时空极不均匀, 地表、地下双重水文地质结构使地表干旱缺水易发生秋冬干旱, 土被不连续, 土壤缺 P、N 等营养元素, 从而限制植物生长, 使得植被生物量偏小, 水、土、植物互作过程具有明显的脆弱性, 表现出易受损和难恢复的特点, 进而加剧石漠化等生态退化问题[32], 成为制约我国西南喀斯特地区可持续发展的瓶颈问题。干旱通过抑制光合作用使植物生长减缓、产量降低、繁殖力下降乃至死亡, 造成群落逆向演替和结构单一, 物种减少甚至灭绝[33]。因此, 干旱胁迫是喀斯特地区农业生产中面临的最严峻问题之一。菌根作物依赖 AMF 共生体维持直接高效的营养吸收与转运机制, 并通过间接调节寄主生理机制的双重作用改变宿主植物的水分代谢[34], 从而提高寄主的抗旱性和土壤肥力。

在植物-AMF-土壤系统中, 土壤酶对干扰响应敏感[25], 蔗糖酶、脲酶和磷酸酶分别是土壤 C、N 和 P 循环转化的关键酶[35], 其活性强弱可表征土壤中 N 素转化状况及 P 素的有效性等。微生物和土壤酶对土壤结构及稳定性、土壤养分转化和植被生态恢复有重要影响[33], 两者均可表征土壤肥力及土壤环境质量[35-36]。正常情况下, 植物与 AMF 间的物质交流有选择地维持动态平衡[5]。逆境下, 控制元素生物地球化学过程不同步, C/N/P 等循环的平衡可能被打破[37]。本研究中, 接种 AMF 使大豆根围磷酸酶、蔗糖酶及脲酶活性显著提高, 而干旱胁迫下, 即使接种 AMF, 3 种土壤酶活性也显著下降, 但接种 AMF 较不接种的干旱胁迫处理, 3 种土壤酶活性均显著提高。可见, 干旱严重抑制上述 3 种水解酶活性, 从而抑制土壤中 C/N/P 等元素的转化和循环。接种 AMF 可在不同程度上保持较高的土壤酶活性, 有利于根际营养物质

(C/N/P)的循环、转化，佐证了接种 AMF 有利于根际营养物质尤其是碳素代谢转化的结论[38]。

土壤为微生物提供多种适宜栖息的微环境[39]。土壤微生物的微生物量周转快，对环境变化敏感[40-41]。土壤养分及水分状况、作物种类等因素均会改变根际土壤微生物群落的分布状况及活性特征，从而灵敏地指示土壤生态系统的变化。干旱胁迫使土壤微生物数量减少、群落多样性降低，反之还会加剧干旱胁迫对植物的影响[42]。AMF 与土壤微生物间有很强的互作，可通过影响微生物酶活性或通过其菌丝本身分泌物以及被 AMF 定植后宿主植物根系分泌物的改变来间接或直接地影响根际微生物群落的数量和结构并达到新的平衡[43-47]。不同类群的微生物对 AMF 的响应不同，这可能与微生物生长条件、供试土壤种类及干旱胁迫强度差异等因素有关[5,42]。菌根植物和非菌根植物根际有不同的细菌群落[48]。本研究结果发现：接种 AMF 后进行干旱胁迫的+AM+D 处理，无论细菌还是真菌群落的数量和 rDNA 片段的条带数均呈一定程度的下降，但仍比不接种的两处理高。接种 AMF 后大豆根围土壤细菌与真菌的多样性、丰富度和均匀度指数均提高，干旱胁迫后 3 个指数均下降，表现出与细菌和真菌群落的数量具相似的变化趋势。已有研究表明，持续干旱主要对根际土壤中的微生物数量产生较大影响。干旱强度的增大对细菌影响最显著，对真菌影响最小[42]。本研究结果也发现相似的变化趋势，且干旱对真菌群落多样性的抑制比细菌小。由于土壤中细菌数量大，所需能源物质多，受根系活动影响明显。随着干旱强度的增加，根系生长受抑制导致根分泌物等能源物质减少，细菌数量减少。但因土壤中细菌的绝对数量很高，即使干旱对它的抑制作用最强，绝对值仍然很大。而土壤中的真菌数量相对少，所需能源物质少，根系活动对其产生的间接作用较小[42]。

AMF 可缓解干旱对大豆根围细菌、真菌的抑制，使其仍能维持较高的群落数量和结构多样性。从本研究聚类分析结果可证明。+AM 与+AM+D 处理的细菌、真菌相似度很高，而+AM+D 与–AM 处理虽不在同一分支但邻近且相似度较高。说明 AMF 可在一定程度上缓解干旱胁迫对大豆根围土壤细菌和真菌群落的抑制而使得其群落数量和多样性维持较高的稳定性。本研究中大豆根围土壤细菌和真菌群落的数量和群落多样性变化趋势与上述 3 种土壤酶活性的变化趋势相呼应，从另一侧面证明土壤酶活性与土壤微生物的数量和活性密切相关。

正常情况下，植物内体有 SOD、POD 等抗氧化酶系统及抗氧化物质可清除氧自由基，其产生和清除维持动态平衡。干旱胁迫下，过多的氧自由基积累加剧膜脂过氧化，MDA 含量显著增高[10]，引起细胞膜系统损伤、功能紊乱，叶绿体受损，抑制光合作用。此外，通过积累游离脯氨酸(FP)等物质进行渗透调节[49]，降低植物水势，防止细胞过度脱水，保护细胞内的酶系统、抗逆蛋白及生物膜等[50]。本研究中，接种 AMF 后进行干旱胁迫大豆叶 SOD、POD 活性下降但仍维持相对的高水平，FP 含量甚至显著高于不接种的正常水分处理，而 MDA 含量较低。说明接种 AMF 可使大豆植株在干旱胁迫下维持较高的抗氧化酶系统活性和较稳定的细胞结构，在一定程度上减少细胞膜系统的损伤。可见，AMF 通过提高抗氧化代谢活性，增强对自由基的清除能力，减缓细胞膜脂氧化进程，提高渗透调节能力来提高大豆抗旱性。这与马坤等[10]的研究结果相似。

生物量是植物抗旱性的最直观表现，为评价抗旱性的可靠标准[48]。本研究中，接种 AMF 后进行干旱胁迫处理的大豆整株干重和株高显著高于不接种处理，证明 C.e 处理可缓解干旱胁迫对大豆生长的抑制，维持较强的生长能力。

## 4 结论

干旱胁迫下，+AM 处理能显著促进大豆抗氧化酶活性，维持较高的活性氧清除能力和渗透调节能力，维护细胞膜系统的稳定性，缓解干旱胁迫对土壤酶活性、土壤微生物(如细菌、真菌)群落组成和多样性的抑制，保持较高的土壤微生物数量和群落的多样性及稳定性，促进 C、N、P 循环和转化，提高抗旱性，有利于对营养物质的吸收代谢和生物量的提高，最终促进大豆生长。C.e 作为一种生态友好型 AMF 菌剂，可在促进喀斯特地区农业生态系统可持续发展中发挥重要作用。

## 参考文献 References

[1] 杨鹏辉，李贵全，郭丽，等. 干旱胁迫对不同抗旱大豆品种花荚期质膜透性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2003, 21(3): 127–130
YANG P H, LI G Q, GUO L, et al. Effect of drought stress on plasma mambrane permeality of soybean varieties during flowering-poding stage[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2003, 21(3): 127–130

[2] 卢琼琼，宋新山，严登华. 干旱胁迫对大豆苗期光合生理特性的影响[J]. 中国农学通报, 2012, 28(9): 42–47

LU Q Q, SONG X S, YAN D H. Effects of drought stress on photosynthetic physiological characteristics in soybean seedling[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(9): 42–47

[3] GRÜMBERG B C, URCELAY C, SHROEDER M A, et al. The role of inoculum identity in drought stress mitigation by arbuscular mycorrhizal fungi in soybean[J]. Biology and Fertility of Soils, 2015, 51(1): 1–10

[4] 舒波, 李伟才, 刘丽琴, 等. 丛枝菌根(AM)真菌与共生植物物质交换研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2016, 22(4): 1111–1117
SHU B, LI W C, LIU L Q, et al. Progress on material exchange between arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and host plant: A review[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2016, 22(4): 1111–1117

[5] 韦莉莉, 卢昌熠, 丁晶, 等. 丛枝菌根真菌参与下植物-土壤系统的养分交流及调控[J]. 生态学报, 2016, 36(14): 4233–4243
WEI L L, LU C Y, DING J, et al. Functional relationships between arbuscular mycorrhizal symbionts and nutrient dynamics in plant-soil-microbe system[J]. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(14): 4233–4243

[6] RUIZ-LOZANO J M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies[J]. Mycorrhiza, 2003, 13(6): 309–317

[7] ABBASPOUR H, SAEIDI-SAR S, AFSHARI H, et al. Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions[J]. Journal of Plant Physiology, 2012, 169(7): 704–709

[8] LI T, HU Y J, HAO Z P, et al. First cloning and characterization of two functional aquaporin genes from an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*[J]. New Phytologist, 2013, 197(2): 617–630

[9] 李涛, 杜娟, 郝志鹏, 等. 丛枝菌根提高宿主植物抗旱性分子机制研究进展[J]. 生态学报, 2012, 32(22): 7169–7176
LI T, DU J, HAO Z P, et al. Molecular basis for enhancement of plant drought tolerance by arbuscular mycorrhizal symbiosis: A mini-review[J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(22): 7169–7176

[10] 马坤, 杨建军, 李璐, 等. 接种丛枝菌根真菌对干旱胁迫下木棉幼苗地上部水分供应的影响[J]. 北方园艺, 2017, (16): 95–101
MA K, YANG J J, LI L, et al. Inoculation of arbuscula mycorrhizal fungi improved water supply in aboveground part of *Bombax ceiba* seedling under drought stress[J]. Northern Horticulture, 2017, (16): 95–101

[11] BÁRZANA G, AROCA R, PAZ J A, et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis increases relative apoplastic water flow in roots of the host plant under both well-watered and drought stress conditions[J]. Annals of Botany, 2012, 109(5): 1009–1017

[12] GONG M G, TANG M, CHEN H, et al. Effects of two *Glomus* species on the growth and physiological performance of *Sophora davidii* seedlings under water stress[J]. New Forests, 2013, 44(3): 399–408

[13] 张亚敏, 马克明, 李芳兰, 等. 干旱胁迫条件下 AMF 促进小马鞍羊蹄甲幼苗生长的机理研究[J]. 生态学报, 2016, 36(11): 3329–3337
ZHANG Y M, MA K M, LI F L, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) promotes *Bauhinia faberi* var. *Microphylla* seedling growth under drought stress conditions[J]. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(11): 3329–3337

[14] 李芳, 高萍, 段廷玉. AM 菌根真菌对非生物逆境的响应及其机制[J]. 草地学报, 2016, 24(3): 491–500
LI F, GAO P, DUAN T Y. Response and mechanism of arbuscular mycorrhizal fungi to abiotic stress[J]. Acta Agrestia Sinica, 2016, 24(3): 491–500

[15] DODD J C, DOUGALL T A, CLAPP J P, et al. The role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant community establishment at samphire Hoe, Kent, UK — The reclamation platform created during the building of the channel tunnel between France and UK[J]. Biodiversity & Conservation, 2002, 11(1): 39–58

[16] 宋长青, 吴金水, 陆雅海, 等. 中国土壤微生物学研究 10 年回顾[J]. 地球科学进展, 2013, 28(10): 1087–1105
SONG C Q, WU J S, LU Y H, et al. Advances of soil microbiology in the last decade in China[J]. Advances in Earth Science, 2013, 28(10): 1087–1105

[17] 曹宏杰, 倪红伟. 土壤微生物多样性及其影响因素研究进展[J]. 国土与自然资源研究, 2015, (3): 85–88
CAO H J, NI H W. Research advances in soil microbial diversity and its impact factors[J]. Territory & Natural Resources Study, 2015, (3): 85–88

[18] 贺纪正, 李晶, 郑袁明. 土壤生态系统微生物多样性-稳定性关系的思考[J]. 生物多样性, 2013, 21(4): 411–420
HE J Z, LI J, ZHENG Y M. Thoughts on the microbial diversity-stability relationship in soil ecosystems[J]. Biodiversity Science, 2013, 21(4): 411–420

[19] 李香真, 郭良栋, 李家宝, 等. 中国土壤微生物多样性监测的现状和思考[J]. 生物多样性, 2016, 24(11): 1240–1248
LI X Z, GUO L D, LI J B, et al. Soil microbial diversity observation in China: Current situation and future consideration[J]. Biodiversity Science, 2016, 24(11): 1240–1248

[20] 孙秀秀, 贺超兴, 李衍素, 等. AM 真菌对黄瓜根围土壤微生物群落功能的影响[J]. 菌物学报, 2017, 36(7): 892–903
SUN X X, HE C X, LI Y S, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on microbial community and function in the rhizosphere soil of cucumber plants[J]. Mycosystema, 2017, 36(7): 892–903

[21] 任旭琴, 潘国庆, 陈伯清, 等. 丛枝菌根真菌对淮安红椒连作土壤养分和酶活的影响[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(17): 4565–4568
REN X Q, PAN G Q, CHEN B Q, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) on soil nutrients and enzyme activities in continuous cropping greenhouse of Huai'an red pepper[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2016, 55(17): 4565–4568

[22] REQUENA N, PEREZ-SOLIS E, AZCÒN-AGUILAR C, et al. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems[J]. Applied and Envi-

ronmental Microbiology, 2001, 67(2): 495–498

[23] 林钰. 喀斯特土壤中接种 AMF 对金橘抗旱性的影响[D]. 桂林: 广西师范大学, 2014: 13–15
LIN Y. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on drought resistance of Kumquat in soil from the karst area[D]. Guilin: Gxuangxi Normal University, 2014: 13–15

[24] TROUVELOT A, KOUGH, J L. Mesure du taux de mycorhization VA dun système radiculaire. Recherche des méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle[M]/Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S, Eds. The Mycorrhizae: Physiology and Genetics. Paris: INRA Presse, 1986: 217–221

[25] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 25–38
BAO S D. Soil and Agricultural Chemistry Analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 25–38

[26] 罗海峰, 齐鸿雁, 张洪勋. 乙草胺对农田土壤细菌多样性的影响[J]. 微生物学报, 2004, 44(4): 519–522
LUO H F, QI H Y, ZHANG H X. The impact of acetochl or the bacterial diversity in soil[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2004, 44(4): 519–522

[27] 杨尚东, 李荣坦, 谭宏伟, 等. 长期单施化肥和有机无机配合条件下红壤蔗区土壤生物学性状及细菌多样性差异[J]. 植物营养与肥料学报, 2016, 22(4): 1024–1030
YANG S D, LI R T, TAN H W, et al. Differences of soil biological characteristics and bacterial diversity of sugarcane fields in red soil region affected by long-term single chemical fertilization and chemical organic combined application[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2016, 22(4): 1024–1030

[28] 陈法霖, 张凯, 郑华, 等. PCR-DGGE 技术解析针叶和阔叶凋落物混合分解对土壤微生物群落结构的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(2): 145–150
CHEN F L, ZHANG K, ZHENG H, et al. Analyzing the effect of mixed decomposition of conifer and broadleaf litters on soil microbial communities by using PCR-DGGE[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2011, 17(2): 145–150

[29] 薛冬, 姚槐应, 黄昌勇. 茶园土壤微生物群落基因多样性[J]. 应用生态学报, 2007, 18(4): 843–847
XUE D, YAO H Y, HUANG C Y. Genetic diversity of microbial communities in tea orchard soil[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2007, 18(4): 843–847

[30] 吴展才, 余旭胜, 徐源泰. 采用分子生物学技术分析不同施肥土壤中细菌多样性[J]. 中国农业科学, 2005, 38(12): 2474–2480
WU Z C, YU X S, XU Y T. Analysis on microbial diversity of different agricultural soils by using molecular biology technique[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(12): 2474–2480

[31] CIAIS P H, REICHSTEIN M, VIOVY N, et al. Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003[J]. Nature, 2005, 437(7058): 529–533

[32] 侯文娟, 高江波, 彭韬, 等. 结构-功能-生境框架下的西南喀斯特生态系统脆弱性研究进展[J]. 地理科学进展, 2016, 35(3): 320–330
HOU W J, GAO J B, PENG T, et al. Review of ecosystem vulnerability studies in the karst region of Southwest China based on a structure-function-habitat framework[J]. Progress in Geography, 2016, 35(3): 320–330

[33] 钱亦兵, 蒋进, 吴兆宁. 艾比湖地区土壤异质性及其对植物群落生态分布的影响[J]. 干旱区地理, 2003, 26(3): 217–222
QIAN Y B, JIANG J, WU Z N. Soil heterogeneity and its impact on ecological distribution of plant community in the Aiby Lake Area[J]. Arid Land Geography, 2003, 26(3): 217–222

[34] 吴强盛, 夏仁学. VA 菌根与植物水分代谢的关系[J]. 中国农学通报, 2004, 20(1): 188–192
WU Q S, XIA R X. The Relation between vesicular-arbuscular mycorrhizae and water metabolism in plants[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2004, 20(1): 188–192

[35] 于会泳, 宋晓丽, 王树声, 等. 低分子量有机酸对植烟土壤酶活性和细菌群落结构的影响[J]. 中国农业科学, 2015, 48(24): 4936–4947
YU H Y, SONG X L, WANG S S, et al. Effects of low molecular weight organic acids on soil enzymes activities and bacterial community structure[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(24): 4936–4947

[36] 叶莹莹, 刘淑娟, 张伟, 等. 喀斯特峰丛洼地植被演替对土壤微生物生物量碳、氮及酶活性的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(21): 6974–6982
YE Y Y, LIU S J, ZHANG W, et al. Dynamics of soil microbial biomass and soil enzyme activity along a vegetation restoration gradient in a karst peak-cluster depression area[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(21): 6974–6982

[37] DELGADO-BAQUERIZO M, MAESTRE F T, GALLARDO A, et al. Decoupling of soil nutrient cycles as a function of aridity in global drylands[J]. Nature, 2013, 502(7473): 672–676

[38] 罗方舟, 向垒, 李慧, 等. 丛枝菌根真菌对旱稻生长、Cd 吸收累积和土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(6): 1090–1095
LUO F Z, XIANG L, LI H, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on growth and Cd accumulation of upland rice and soil enzyme activities in cadmium contaminated soil[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2015, 34(6): 1090–1095

[39] LORANGER-MERCIRIS G, BARTHES L, GASTINE A, et al. Rapid effects of plant species diversity and identity on soil microbial communities in experimental grassland ecosystems[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(8): 2336–2343

[40] 罗攀, 陈浩, 肖孔操, 等. 地形、树种和土壤属性对喀斯特山区土壤胞外酶活性的影响[J]. 环境科学, 2017, 38(6): 2577–2585
LUO P, CHEN H, XIAO K C, et al. Effects of topography, tree

species and soil properties on soil enzyme activity in karst regions[J]. Environmental Science, 2017, 38(6): 2577–2585

[41] 李林海, 邱莉萍, 梦梦. 黄土高原沟壑区土壤酶活性对植被恢复的响应[J]. 应用生态学报, 2012, 23(12): 3355–3360
LI L H, QIU L P, MENG M. Responses of soil enzyme activities to re-vegetation in gully Loess Plateau of Northwest China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, 23(12): 3355–3360

[42] 刘方春, 邢尚军, 马海林, 等. 持续干旱对樱桃根际土壤细菌数量及结构多样性影响[J]. 生态学报, 2014, 34(3): 642–649
LIU F C, XING S J, MA H L, et al. Effects of continuous drought on soil bacteria populations and community diversity in sweet cherry rhizosphere[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(3): 642–649

[43] DUMBRELL A J, NELSON M, HELGASON T, et al. Idiosyncrasy and overdominance in the structure of natural communities of arbuscular mycorrhizal fungi: Is there a role for stochastic processes?[J]. Journal of Ecology, 2010, 98(2): 419–428

[44] WELC M, RAVNSKOV S, KIELISZEWSKA-ROKICKA B, et al. Suppression of other soil microorganisms by mycelium of Arbuscular mycorrhizal fungi in root-free soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(9): 1534–1540

[45] SCHEUBLIN T R, SANDERS I R, KEEL C, et al. Characterisation of microbial communities colonising the hyphal surfaces of Arbuscular mycorrhizal Fungi[J]. The ISME Journal, 2010, 4(6): 752–763

[46] MIRANSARI M. Interactions between Arbuscular mycorrhizal Fungi and soil bacteria[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 89(4): 917–930

[47] 贺学礼, 高露, 赵丽莉. 水分胁迫下丛枝菌根 AM 真菌对民勤绢蒿生长与抗旱性的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(4): 1029–1037
HE X L, GAO L, ZHAO L L. Effects of AM fungi on the growth and drought resistance of *Seriphidium minchünense* under water stress[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(4): 1029–1037

[48] 朱红惠, 龙良坤, 羊宋贞, 等. AM 真菌对青枯菌和根际细菌群落结构的影响[J]. 菌物学报, 2005, 24(1): 137–142
ZHU H H, LONG L K, YANG S Z, et al. Influence of AM fungus on *Ralstonia solanacearum* population and bacterial community structure in rhizosphere[J]. Mycosystema, 2005, 24(1): 137–142

[49] 崔婷茹, 于慧敏, 李会彬, 等. 干旱胁迫及复水对狼尾草幼苗生理特性的影响[J]. 草业科学, 2017, 34(4): 788–793
CUI T R, YU H M, LI H B, et al. Effect of drought stress and rewatering on physiological characteristics of *Pennisetum alopecuroides* seedling[J]. Pratacultural Science, 2017, 34(4): 788–793

[50] 王琰, 陈建文, 狄晓艳. 水分胁迫下不同油松种源 SOD、POD、MDA 及可溶性蛋白比较研究[J]. 生态环境学报, 2011, 20(10): 1449–1453
WANG Y, CHEN J W, DI X Y. A comparative study on the SOD, POD, MDA and dissoluble protein of six provenances of Chinese Pine (*Pinus tabulaeformis* Carr.) under water stress[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2011, 20(10): 1449–1453