

# 干旱胁迫对红豆草幼苗生长及根际土壤细菌群落的影响

司海灿,温素军,南丽丽\*,火久艳,黄富,蒲涵,徐昊玥

(甘肃农业大学草业学院,草业生态系统教育部重点实验室,甘肃省草业工程实验室,中-美草地畜牧业可持续发展研究中心,甘肃 兰州 730070)

**摘要:**【目的】为旱地红豆草丰产、高效、优质栽培提供理论依据和技术指导。【方法】以红豆草(*Onobrychis viciaefolia*)新品系 P1、P2、P3 和甘肃红豆草(*O. viciaefolia* cv. Gansu)、蒙农红豆草(*O. viciaefolia* cv. Mengnong)为试验材料,采用营养液沙培法,以 $-0.8$  MPa PEG-6000 模拟干旱胁迫,研究不同干旱胁迫时间(0、3、6、9 d)对红豆草幼苗生长及根际土壤细菌群落结构的影响。【结果】随干旱胁迫时间延长,红豆草株高和根平均直径呈增大趋势;叶面积显著减小( $P < 0.05$ );地上干重、根尖数、根长、根表面积、根体积均显著增加( $P < 0.05$ );地下干重、根冠比、根系活力先增大后减小( $P < 0.05$ ),并在胁迫 3 d 时达到最大。在整个胁迫期间,新品系 P1 的根尖数、根直径、地上干重、地下干重均值高于其他材料。Chao1、ACE、Simpson 和 Shannon-wiener 指数先降低后增加( $P < 0.05$ ),在 0 d 时最大,前二者在 6 d 时最小,而后二者在 3 d 时最小。根际土壤细菌群落以变形菌门、厚壁菌门、疣微菌门、拟杆菌门和放线菌门为主,干旱胁迫时间显著增加了变形菌门的相对丰度( $P < 0.05$ ),显著降低了厚壁菌门、放线菌门和疣微菌门的相对丰度( $P < 0.05$ ),但蓝藻菌门和拟杆菌门的相对丰度先降低后增加( $P < 0.05$ )。【结论】干旱胁迫对红豆草幼苗生长及根际土壤细菌群落组成有显著影响。

**关键词:**红豆草;干旱胁迫;根际;细菌群落丰度

**中图分类号:**S541<sup>+</sup>.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2023)03-0092-08

**DOI:**10.13817/j.cnki.cyycp.2023.03.012



我国干旱和半干旱地区的面积约占国土面积的 52.5%<sup>[1]</sup>,干旱胁迫对农作物造成的损失在所有非生物胁迫中占首位<sup>[2]</sup>。红豆草(*Onobrychis viciaefolia*)是我国干旱区、半干旱区和高寒区很有发展前途的优质豆科牧草<sup>[3]</sup>,被广泛用于饲草料基地建设、水土保持工程建设、草田轮作、绿肥<sup>[4]</sup>等。我国审定登记的红豆草品种数量较少<sup>[5]</sup>,培育和应用抗旱红豆草品种能使

干旱地区的红豆草增产、稳产。

红豆草对病害<sup>[6]</sup>、盐渍<sup>[7]</sup>、干旱<sup>[8]</sup>和霜冻<sup>[9]</sup>等逆境均有较好耐受性,但不同品种之间抗性差异较大。当出现干旱胁迫时,根系能最先感知土壤缺水并迅速产生信号传递到各个器官,植物通过改变自身形态和生理生化特性以适应变化的水分环境<sup>[10]</sup>,进而影响根际环境<sup>[11]</sup>。根际是受植物根系及其生长活动显著影响的土壤微域环境<sup>[12]</sup>,根际微生物群落种类和数量与植物生长、繁殖密切相关<sup>[13]</sup>。干旱胁迫能调控植物根际土壤细菌群落结构和组成,使得某些功能菌群、有益菌群和有害菌群显著变化<sup>[14]</sup>,对土壤生物化学活性及养分组成与转化、植物生长发育及抗胁迫能力有直接影响<sup>[15]</sup>。

目前有关干旱胁迫对红豆草根系形态及根际细菌群落结构影响的研究鲜见报道。因此,本研究采用

**收稿日期:**2021-12-02;**修回日期:**2021-12-22

**基金项目:**甘肃农业大学国家级大学生创新创业训练计划项目(202010733007);甘肃农业大学校级大学生科研训练项目(202002033)

**作者简介:**司海灿(2000-),女,山东济宁人,本科生。

E-mail:1297821964@qq.com

\*通信作者。E-mail:nanll@gsau.edu.cn

-0.8 MPa PEG-6000(聚乙二醇6000)模拟干旱胁迫,研究不同胁迫时间(0、3、6、9 d)对红豆草幼苗生长及根际土壤细菌群落结构的影响,为不同红豆草材料根际土壤菌群结构平衡、增强胁迫耐受性提供参考,为旱地红豆草丰产、高效、优质栽培提供理论依据和技术指导。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

利用杂交选育的3个红豆草品系(编号分别为P1、P2、P3<sup>[3]</sup>)及甘肃红豆草(*O. viciaefolia* cv. Gansu, GS)和蒙农红豆草(*O. viciaefolia* cv. Mengnong, MN)为供试材料,蒙农红豆草种子由内蒙古农业大学提供,其余均由甘肃农业大学草业学院提供。

### 1.2 试验设计

在甘肃农业大学草业学院植物生长室,采用沙培盆栽试验,选用11 cm(高)×9 cm培养钵中,每盆装河沙500 g,播种饱满、均匀、无病虫害的红豆草种子15粒,每份红豆草播种12盆,共60盆;播种后每盆每2 d浇灌50 mL Hoagland营养液,待长出两片真叶时进行间苗,每盆留苗10株。待幼苗生长40 d后,每隔2 d每盆浇灌50 mL含PEG-6000(水势为-0.8 MPa)的Hoagland营养液进行胁迫处理,以仅含Hoagland营养液的处理为对照,分别在处理后0、3、6、9 d取红豆草幼苗测定形态特征,每个处理重复3次,抖掉根系外围河沙,用毛刷取紧贴在根系上的河沙,每个处理的所有重复混合后作为根际土,保存在-80℃冰箱中用于土壤微生物总DNA提取。

### 1.3 测定方法

取10株植株测绝对高度,取平均值为株高;将10个植株的叶茎地上部及根系地下部分开,采用烘干法测定其干物质量并计算根冠比(根系干物质量/叶茎干物质量)。将各处理的根系用蒸馏水冲洗干净,采用台式扫描仪(型号:Epson Expression 1200XL,产地:中国上海)对根系进行扫描并将图像存入电脑,采用WinRHIZO根系分析系统软件分析根系总长度、根系总表面积、根系平均直径、根体积和根尖数等;氯化三苯基四氮唑(TTC)法测定根系活力<sup>[16]</sup>。

土壤总DNA提取及细菌16S rRNA基因扩增:采用CTAB方法对样本的基因组DNA进行提取,用1%

琼脂糖凝胶电泳检测DNA的质量,取适量的样品于离心管中,用无菌水稀释样品至1 ng/μL。以稀释后的基因组DNA为模板,根据测序区域的选择,使用带Barcode的特异引物,New England Biolabs公司的Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer,和高效高保真酶进行PCR,确保扩增效率和准确性。利用引物515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')与806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')扩增其V4区基因片段,每个处理3次重复。反应产物用2%琼脂糖凝胶电泳检测。通过Hiseq 2500平台(Illumina, San Diego, CA, USA)进行测序(诺禾致源生物信息科技有限公司,北京)。下机数据经过QIIME(v1.8.0)软件过滤、拼接、去除嵌合体后<sup>[17-18]</sup>,得到可用于后续分析的有效序列(effective tags)。

### 1.4 数据分析

用Excel 2003进行数据统计,用SPSS 20.0软件进行方差分析,用Duncan法对数据进行多重比较。利用Uparse软件对样品的有效序列进行OTUs聚类(Operational Taxonomic Units,相似度97%以上),用Mothur方法<sup>[19]</sup>与Silva软件的SSUrRNA数据库<sup>[20]</sup>进行物种注释(设定阈值为0.8~1.0);采用MUSCLE(3.8.31)软件<sup>[21]</sup>进行快速多序列比对,采用QIIME(1.9.1)软件计算Alpha多样性指数,使用R软件(2.15.3)绘制稀释曲线。

## 2 结果与分析

### 2.1 干旱胁迫下红豆草幼苗生长差异分析

随干旱胁迫天数的延长,各红豆草材料的株高、根系平均直径呈增大趋势,变化分别为14.7~17.0 cm、0.22~0.26 mm,且各材料间差异不显著;随胁迫程度增加,各材料的地上干重、根尖数、根长、根表面积、根体积均显著增加( $P<0.05$ ),胁迫9 d时,GS的根尖数和根长高于其他材料,而地上干重小于其他材料;P1的根表面积、根体积大于其他材料。地下干重、根冠比、根系活力均先增大后减小( $P<0.05$ ),均在胁迫3 d时达到最大值,且GS的根系活力、P2和P3的根冠比及地下干重均小于其他材料(表1)。

表1 干旱胁迫时间对不同红豆草材料幼苗生长的影响

Table 1 Effect of drought stress time on seedling growth of different sainfoin lines

处理	株高/cm	地上干重/ (g·(10株) <sup>-1</sup> )	根系干重/ (g·(10株) <sup>-1</sup> )	根冠比	根系活力/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	根系平均直 径/mm	根体积/cm <sup>3</sup>	根系总表 面积/cm <sup>2</sup>	根系总长/ cm	根尖数
P1-0 d	14.8±1.31 <sup>a</sup>	4.12±0.51 <sup>b</sup>	1.81±0.36 <sup>ab</sup>	0.44±0.11 <sup>b</sup>	753.33±5.77 <sup>f</sup>	0.23±0.02 <sup>a</sup>	0.16±0.00 <sup>b</sup>	12.53±0.69 <sup>c</sup>	9.60±0.17 <sup>d</sup>	69±1.00 <sup>c</sup>
P1-3 d	15.1±1.89 <sup>a</sup>	4.32±0.41 <sup>b</sup>	2.02±0.27 <sup>a</sup>	0.47±0.07 <sup>b</sup>	1360.00±1.00 <sup>a</sup>	0.23±0.00 <sup>a</sup>	0.18±0.01 <sup>b</sup>	12.85±0.04 <sup>c</sup>	10.35±0.63 <sup>c</sup>	76±2.08 <sup>b</sup>
P1-6 d	15.4±2.12 <sup>a</sup>	4.62±0.72 <sup>b</sup>	1.58±0.20 <sup>b</sup>	0.34±0.02 <sup>c</sup>	956.66±5.27 <sup>d</sup>	0.24±0.00 <sup>a</sup>	0.24±0.00 <sup>a</sup>	13.43±0.03 <sup>b</sup>	11.22±0.01 <sup>b</sup>	79±1.00 <sup>b</sup>
P1-9 d	15.9±1.71 <sup>a</sup>	5.22±0.15 <sup>a</sup>	1.50±0.26 <sup>b</sup>	0.28±0.04 <sup>d</sup>	426.66±3.27 <sup>h</sup>	0.26±0.00 <sup>a</sup>	0.24±0.01 <sup>a</sup>	14.18±0.62 <sup>a</sup>	12.14±0.91 <sup>a</sup>	83±0.57 <sup>a</sup>
P2-0 d	15.6±2.02 <sup>a</sup>	3.83±0.54 <sup>c</sup>	1.74±0.13 <sup>ab</sup>	0.45±0.03 <sup>b</sup>	626.66±4.00 <sup>g</sup>	0.24±0.01 <sup>a</sup>	0.17±0.00 <sup>b</sup>	12.72±0.1 <sup>c</sup>	9.52±0.34 <sup>d</sup>	71±1.73 <sup>bc</sup>
P2-3 d	15.9±1.99 <sup>a</sup>	3.97±0.35 <sup>bc</sup>	1.91±0.48 <sup>a</sup>	0.48±0.12 <sup>b</sup>	1183.33±1.54 <sup>e</sup>	0.25±0.01 <sup>a</sup>	0.19±0.00 <sup>ab</sup>	12.83±0.04 <sup>c</sup>	10.63±0.02 <sup>c</sup>	76±1.00 <sup>b</sup>
P2-6 d	16.1±1.47 <sup>a</sup>	4.52±0.35 <sup>b</sup>	1.46±0.06 <sup>b</sup>	0.32±0.01 <sup>c</sup>	900.00±1.00 <sup>d</sup>	0.25±0.00 <sup>a</sup>	0.22±0.00 <sup>a</sup>	13.66±0.08 <sup>b</sup>	11.13±0.15 <sup>b</sup>	79±1.52 <sup>b</sup>
P2-9 d	16.1±1.24 <sup>a</sup>	4.93±0.27 <sup>ab</sup>	1.27±0.09 <sup>c</sup>	0.25±0.01 <sup>d</sup>	420.00±7.32 <sup>h</sup>	0.25±0.01 <sup>a</sup>	0.23±0.00 <sup>a</sup>	14.07±0.63 <sup>a</sup>	11.74±0.35 <sup>b</sup>	81±1.52 <sup>ab</sup>
P3-0 d	14.7±19.2 <sup>a</sup>	3.75±0.68 <sup>c</sup>	1.54±0.23 <sup>b</sup>	0.41±0.01 <sup>b</sup>	626.66±1.54 <sup>g</sup>	0.22±0.00 <sup>a</sup>	0.15±0.00 <sup>b</sup>	12.41±0.11 <sup>c</sup>	9.28±0.27 <sup>d</sup>	65±0.57 <sup>c</sup>
P3-3 d	15.0±1.77 <sup>a</sup>	3.98±0.55 <sup>bc</sup>	2.23±0.47 <sup>a</sup>	0.56±0.10 <sup>a</sup>	1346.66±2.81 <sup>a</sup>	0.22±0.00 <sup>a</sup>	0.16±0.00 <sup>b</sup>	12.68±1.11 <sup>c</sup>	10.21±0.22 <sup>c</sup>	76±1.15 <sup>b</sup>
P3-6 d	15.2±2.33 <sup>a</sup>	4.17±0.48 <sup>b</sup>	1.50±0.06 <sup>b</sup>	0.36±0.06 <sup>c</sup>	806.66±1.54 <sup>e</sup>	0.23±0.00 <sup>a</sup>	0.22±0.00 <sup>a</sup>	12.77±0.05 <sup>c</sup>	10.68±0.78 <sup>c</sup>	78±0.57 <sup>b</sup>
P3-9 d	15.2±1.55 <sup>a</sup>	4.82±0.55 <sup>ab</sup>	1.25±0.31 <sup>c</sup>	0.25±0.04 <sup>d</sup>	406.66±5.27 <sup>h</sup>	0.25±0.01 <sup>a</sup>	0.22±0.00 <sup>a</sup>	13.46±0.06 <sup>b</sup>	11.14±0.38 <sup>b</sup>	81±1.52 <sup>ab</sup>
GS-0 d	15.4±0.99 <sup>a</sup>	3.53±1.09 <sup>c</sup>	1.43±0.41 <sup>b</sup>	0.40±0.01 <sup>b</sup>	693.33±1.54 <sup>g</sup>	0.22±0.03 <sup>a</sup>	0.16±0.00 <sup>b</sup>	12.81±0.12 <sup>c</sup>	9.75±0.22 <sup>d</sup>	69±1.15 <sup>c</sup>
GS-3 d	15.6±2.08 <sup>a</sup>	3.89±0.27 <sup>bc</sup>	1.89±0.12 <sup>ab</sup>	0.48±0.01 <sup>b</sup>	1253.33±3.55 <sup>b</sup>	0.22±0.01 <sup>a</sup>	0.17±0.00 <sup>b</sup>	13.12±0.08 <sup>b</sup>	10.79±0.12 <sup>c</sup>	72±1.73 <sup>b</sup>
GS-6 d	16.1±2.59 <sup>a</sup>	4.58±1.34 <sup>b</sup>	1.68±0.17 <sup>b</sup>	0.38±0.11 <sup>c</sup>	926.66±5.77 <sup>d</sup>	0.24±0.00 <sup>a</sup>	0.23±0.01 <sup>a</sup>	13.94±0.12 <sup>a</sup>	11.35±0.24 <sup>b</sup>	80±2.30 <sup>bc</sup>
GS-9 d	16.2±1.63 <sup>a</sup>	4.59±0.43 <sup>b</sup>	1.28±0.27 <sup>c</sup>	0.27±0.07 <sup>d</sup>	343.33±1.54 <sup>i</sup>	0.25±0.00 <sup>a</sup>	0.24±0.00 <sup>a</sup>	14.10±0.49 <sup>a</sup>	12.62±0.58 <sup>a</sup>	85±1.00 <sup>a</sup>
MN-0 d	16.2±1.61 <sup>a</sup>	3.99±1.14 <sup>b</sup>	1.40±0.44 <sup>bc</sup>	0.34±0.01 <sup>c</sup>	753.33±6.27 <sup>f</sup>	0.23±0.01 <sup>a</sup>	0.17±0.00 <sup>b</sup>	12.19±0.05 <sup>c</sup>	9.22±0.08 <sup>d</sup>	68±1.15 <sup>c</sup>
MN-3 d	16.5±1.51 <sup>a</sup>	4.26±0.45 <sup>b</sup>	1.83±0.27 <sup>ab</sup>	0.42±0.02 <sup>b</sup>	1216.66±2.81 <sup>b</sup>	0.22±0.02 <sup>a</sup>	0.20±0.00 <sup>a</sup>	13.27±0.54 <sup>b</sup>	10.67±0.67 <sup>c</sup>	71±2.00 <sup>bc</sup>
MN-6 d	16.9±1.43 <sup>a</sup>	4.45±0.78 <sup>b</sup>	1.52±0.28 <sup>b</sup>	0.34±0.07 <sup>c</sup>	840.00±6.45 <sup>e</sup>	0.25±0.00 <sup>a</sup>	0.21±0.00 <sup>a</sup>	13.93±0.21 <sup>a</sup>	11.25±0.02 <sup>b</sup>	78±2.51 <sup>b</sup>
MN-9 d	17.0±1.49 <sup>a</sup>	5.50±0.88 <sup>a</sup>	1.47±0.25 <sup>b</sup>	0.26±0.01 <sup>d</sup>	416.66±3.27 <sup>h</sup>	0.25±0.00 <sup>a</sup>	0.22±0.01 <sup>a</sup>	14.00±1.82 <sup>a</sup>	12.45±0.45 <sup>a</sup>	81±2.30 <sup>ab</sup>

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ),下同

## 2.2 根际土壤细菌群落丰度与 Alpha 多样性分析

各样品稀释曲线均趋于平缓,各样品文库的覆盖度均在99%以上,说明本研究测序数据合理,能够准确反映出土壤细菌群落的真实信息(图1)。通过高通量测序,过滤掉低质量的序列后,P1-0 d、P1-3 d、P1-6 d、P1-9 d所特有的 OTUs 数目分别为775、68、51和69个;P2-0 d、P2-3 d、P2-6 d、P2-9 d所特有的 OTUs 数目分别为236、76、55和73个;P3-0 d、P3-3 d、P3-6 d、P3-9 d所特有的 OTUs 数目分别为218、76、51和67个;GS-0 d、GS-3 d、GS-6 d、GS-9 d所特有的 OTUs 数目分别为135、71、60和324个;MN-0 d、MN-3 d、MN-6 d、MN-9 d所特有的 OTUs 数目分别为137、164、73和637个(图2)。

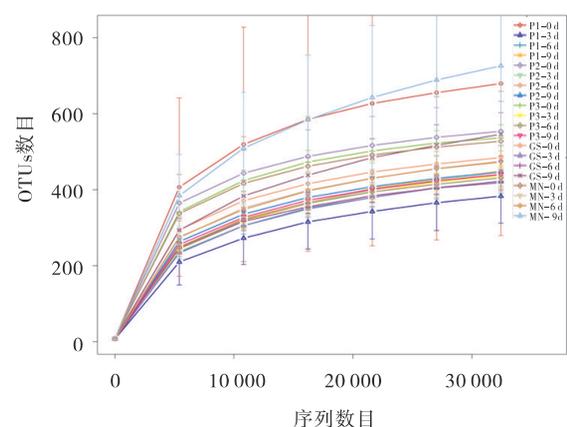


图1 样品稀释曲线

Fig. 1 Rarefaction curves for samples

各处理 Chao1 指数和 ACE 指数先降低后增加( $P<0.05$ ),均在 0 d 时最大,6 d 时最小,且 Chao1 指数

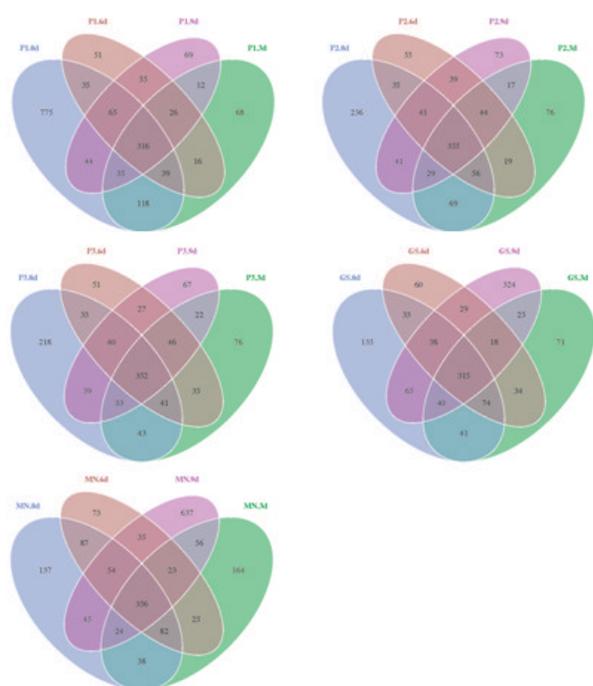


图 2 样品 Venn 图

Fig. 2 Venn diagrams of samples

P1 在 0 d 时显著大于其他材料, ACE 指数 MN 在 0 d 时显著大于其他材料, Chao1 和 ACE 指数 P1 在 6 d 时显著小于其他材料。Simpson 和 Shannon—wiener 指数先降低后增加 ( $P < 0.05$ ), 均在 0 d 时最大, 3 d 时最小, 且 Simpson 指数 0 d 时 GS 最小, 3 d 时 P1 最小; Shannon—wiener 指数 MN 在 0 d 时最高, GS 在 3 d 时最小(表 2)。

### 2.3 根际土壤细菌群落组成

各处理的根际土壤细菌群落相对丰度前九的细菌门分别为: 变形菌门(Proteobacteria)(63.66%~93.70%)、厚壁菌门(Firmicutes)(0.62%~12.80%)、疣微菌门(Verrucomicrobia)(0.13%~12.49%)、拟杆菌门(Bacteroidetes)(2.12%~7.73%)、放线菌门(Actinobacteria)(0.11%~6.27%)、蛭弧菌门(Bdellovibrio)(0.15%~5.47%)、蓝藻菌门(Cyanobacteria)(0.21%~4.48%)、绿弯菌门(Chloroflexi)(0.01%~0.68%)、Armatimonadota(0.00%~0.37%), 共占细菌总数的 96.50%~99.40%。其中变形菌门为优势

表 2 样品序列数统计、丰富度与多样性指数

Table 2 Sample sequence numbers statistics, richness and diversity index

处理	Observed OTUs	香农—威纳指数	辛普森指数	Chao1 指数	ACE 指数	覆盖度/%
P1-0 d	1427±13.50	6.159±0.741 <sup>a</sup>	0.925±0.10 <sup>b</sup>	820.37±6.01 <sup>b</sup>	763.55±20.06 <sup>b</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
P1-3 d	442±19.14	4.204±0.950 <sup>d</sup>	0.881±0.01 <sup>c</sup>	473.22±4.78 <sup>c</sup>	492.52±47.98 <sup>c</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
P1-6 d	480±20.00	4.707±0.232 <sup>c</sup>	0.906±0.03 <sup>b</sup>	451.11±7.27 <sup>c</sup>	465.13±61.22 <sup>d</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
P1-9 d	514±18.31	4.887±0.132 <sup>c</sup>	0.915±0.00 <sup>b</sup>	541.93±6.07 <sup>d</sup>	546.57±56.88 <sup>c</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
P2-0 d	599±38.26	6.497±0.159 <sup>a</sup>	0.968±0.01 <sup>a</sup>	622.11±5.47 <sup>c</sup>	611.97±81.08 <sup>c</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
P2-3 d	527±10.01	4.783±0.256 <sup>c</sup>	0.897±0.02 <sup>bc</sup>	519.96±4.04 <sup>d</sup>	541.55±23.88 <sup>c</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
P2-6 d	491±18.26	4.926±0.081 <sup>bc</sup>	0.905±0.00 <sup>b</sup>	482.16±1.93 <sup>c</sup>	503.18±25.24 <sup>c</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
P2-9 d	498±36.07	5.518±0.162 <sup>b</sup>	0.940±0.02 <sup>ab</sup>	508.59±6.44 <sup>de</sup>	511.65±62.05 <sup>c</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
P3-0 d	587±42.34	5.976±0.321 <sup>b</sup>	0.944±0.02 <sup>ab</sup>	573.53±4.25 <sup>d</sup>	582.52±45.5 <sup>c</sup>	0.998±0.00 <sup>a</sup>
P3-3 d	506±31.57	4.393±0.096 <sup>cd</sup>	0.875±0.00 <sup>c</sup>	487.43±5.02 <sup>e</sup>	509.99±47.23 <sup>c</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
P3-6 d	491±34.11	5.007±0.093 <sup>bc</sup>	0.916±0.00 <sup>b</sup>	484.21±1.99 <sup>e</sup>	492.81±22.86 <sup>c</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
P3-9 d	500±11.93	5.406±0.159 <sup>b</sup>	0.935±0.01 <sup>ab</sup>	494.32±0.50 <sup>e</sup>	511.66±7.48 <sup>c</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
GS-0 d	541±28.61	5.855±0.294 <sup>b</sup>	0.961±0.01 <sup>a</sup>	552.91±4.56 <sup>d</sup>	550.75±41.27 <sup>c</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
GS-3 d	487±17.01	4.522±0.088 <sup>c</sup>	0.874±0.02 <sup>c</sup>	521.96±1.21 <sup>d</sup>	519.21±13.54 <sup>c</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
GS-6 d	476±23.48	5.116±0.336 <sup>b</sup>	0.932±0.02 <sup>ab</sup>	458.35±3.48 <sup>e</sup>	470.75±31.55 <sup>d</sup>	0.998±0.00 <sup>a</sup>
GS-9 d	618±37.25	5.4±0.457 <sup>b</sup>	0.942±0.02 <sup>ab</sup>	696.03±9.62 <sup>c</sup>	700.96±18.24 <sup>b</sup>	0.995±0.00 <sup>a</sup>
MN-0 d	581±16.00	6.408±0.779 <sup>a</sup>	0.973±0.01 <sup>a</sup>	920.55±11.07 <sup>a</sup>	925.13±301.84 <sup>a</sup>	0.998±0.00 <sup>a</sup>
MN-3 d	529±16.27	4.785±0.330 <sup>c</sup>	0.892±0.02 <sup>bc</sup>	587.69±4.81 <sup>d</sup>	593.16±15.17 <sup>c</sup>	0.997±0.00 <sup>a</sup>
MN-6 d	524±31.27	5.076±0.537 <sup>bc</sup>	0.912±0.03 <sup>b</sup>	532.34±2.68 <sup>d</sup>	537.86±63.00 <sup>c</sup>	0.996±0.00 <sup>a</sup>
MN-9 d	814±50.71	5.824±0.707 <sup>b</sup>	0.943±0.02 <sup>ab</sup>	568.00±3.04 <sup>d</sup>	564.03±26.37 <sup>c</sup>	0.994±0.00 <sup>a</sup>

菌群。不同处理细菌在门分类水平上,相对丰度有一定的差异。随胁迫天数增加,与0 d相比,各红豆草材料变形菌门、蛭弧菌门显著增加( $P<0.05$ ),蓝藻菌

门、拟杆菌门先降低后增加( $P<0.05$ ),而厚壁菌门、放线菌门、绿弯菌门和疣微菌门均显著降低( $P<0.05$ )(图3)。

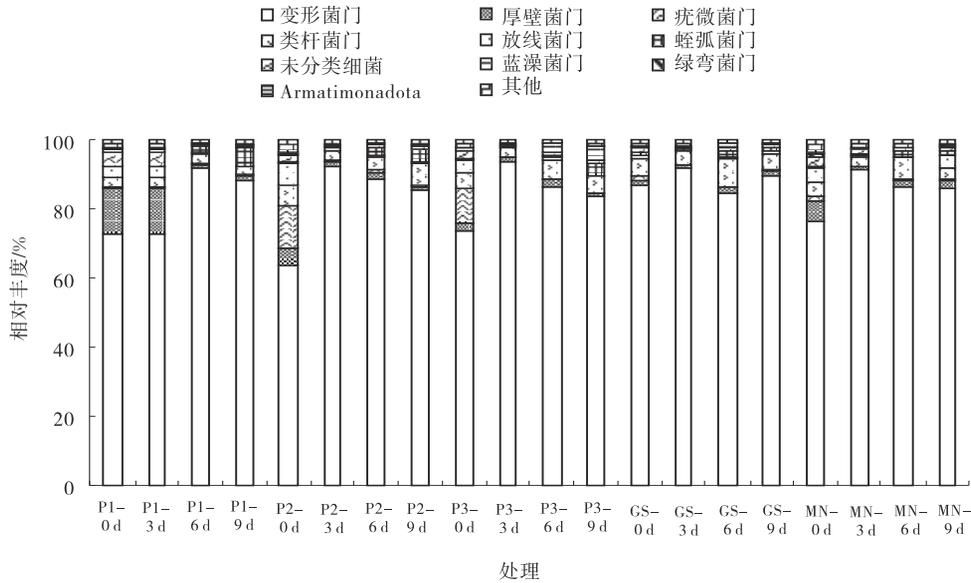


图3 门分类水平下的细菌群落相对丰度

Fig. 3 Relative abundance of bacterial community at phylum level

各处理细菌群落相对丰度前十的细菌属分别为:假单孢菌属(*Pseudomonas*)、*Ralstonia*、偶氮螺菌属(*Azospirillum*)、*Acinetobacter*、根瘤菌属(*Rhizobium*)、*Niveispirillum*、*Simplicispira*、新鞘脂菌属、*Bacillus*、*Bacteroides*,共占细菌总属的32.37%~81.61%,其他类群的相对丰度占18.39%~67.63%。细菌在属分类水平上,各处理相对丰度亦有一定的差异。随胁迫程度增加,与CK相比,各红豆草材料的根际土壤细菌群落*Ralstonia*、*Simplicispira*、*Novosphingobium*和*Bacillus*均显著降低( $P<0.05$ ),*Acinetobacter*、*Niveispirillum*和根瘤菌属均显著增加( $P<0.05$ ),假单孢菌属和*Azospirillum*先增加后降低( $P<0.05$ ),均在胁迫3 d时最高;*Rhizobium*先下降后增加再降低( $P<0.05$ ),胁迫6 d时最大。

### 3 讨论

根系形态是描述植物根系随环境变化的重要指标。厉广辉等<sup>[22]</sup>研究认为,根干重、根体积、根总面积与品种抗旱能力呈显著正相关;汪堃等<sup>[23]</sup>研究表明,随水分胁迫程度增加,苜蓿的株高、地上生物量、地下

生物量、根系活力、根体积、根系总长均显著降低,根冠比先增加后下降且在中等胁迫时达到最大值。本研究显示,与0 d相比,随胁迫天数增加,新品系P1的根系平均直径、总表面积、干重、根系活力和根冠比增加幅度均较大,表明P1的抗旱性相对较强。

研究表明,细菌在土壤环境中的移动和获取营养物质的过程需要依赖于土壤中水膜的流动<sup>[24]</sup>,因此水分条件的变化对细菌的影响很大,其中在生理结构上细胞壁更厚且致密的革兰氏阳性菌比革兰氏阴性菌耐旱性更强<sup>[25]</sup>。本研究表明,干旱胁迫显著增加了变形菌门、蛭弧菌门细菌的相对丰度,显著降低了厚壁菌门、放线菌门、绿弯菌门和疣微菌门的相对丰度,而蓝藻菌门、拟杆菌门细菌的相对丰度先降低后增加。包含多种病原菌和固氮菌(如根瘤菌)的变形菌门细菌是各种植物根际细菌中的优势菌群并具有较厚的细胞壁能抵抗水分胁迫<sup>[26]</sup>,可以解释其在干旱胁迫后明显富集的现象,且胁迫6 d时,新品系P1的变形菌门丰度明显高于其他材料;胁迫9 d时,除与GS差异不显著外,其变形菌门丰度显著大于其他材料,表明水分胁迫下,P1的细胞壁增厚,可抵抗水分胁迫。蛭弧

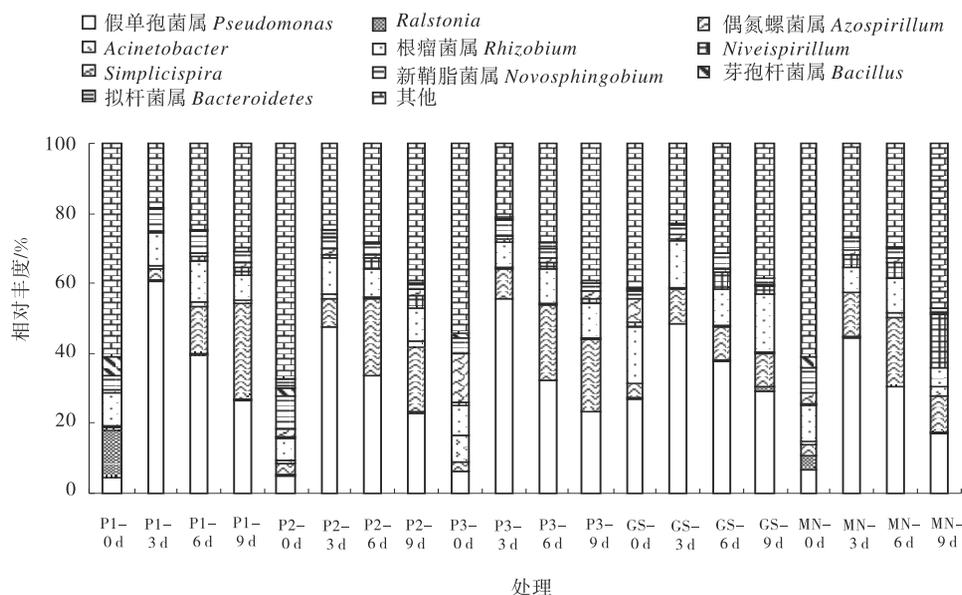


图 4 属分类水平下的细菌群落相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of bacterial community at genus level

菌为革兰氏阴性菌,是一类体形小、能通过细菌滤器且有类似于噬菌体噬菌功能的细菌寄生菌,具有寄生和裂解(溶菌)多种病原菌的独特生物学特性<sup>[27]</sup>,在本试验中其显著增加可能是吞噬了其他细菌,对土壤环境中的水分直接利用较少,使其丰度升高,且胁迫 9 d 时,新品系 P1 的蛭弧菌门丰度显著高于其他材料,表明 P1 在干旱胁迫下,对水分的直接利用减少,增强对水分胁迫的抵抗力。厚壁菌门可耐受干旱、低温等极端条件<sup>[28]</sup>,放线菌门和疣微菌门具有迅速合成蛋白质的能力而快速响应水分变化<sup>[29]</sup>,在本试验中其相对丰富降低,表明对水分变化敏感,这可能与植物种类、根际养分有效性、根系分泌物和植物生长发育时期等因素相关<sup>[30]</sup>。绿弯菌参与 C、N、S 等一系列重要生源元素的生物地球化学循环过程<sup>[31]</sup>,干旱胁迫降低了 C、N、S 等生物地球化学循环过程。蓝藻菌门和拟杆菌门在干旱胁迫初期降低后增加,这可能与干旱胁迫对蓝藻菌门和拟杆菌门中细菌结构进行筛选有关。可见,干旱胁迫明显影响土壤微生物群落结构,但水分条件变化下土壤微生物群落的结构变化特征与响应机制尚需进一步研究。

## 4 结论

干旱胁迫对红豆草幼苗生长及根际土壤细菌菌群组成有显著影响。随干旱胁迫时间延长,红豆草株

高、根颈直径呈增大趋势,地上干重、根尖数、根长、根表面积、根体积均显著增加,叶面积显著减小,地下干重、根冠比、根系活力均先增加后下降且在胁迫 3 d 时达到最大值;Chao1、ACE、Simpson 和 Shannon-wiener 指数先降低后增加;变形菌门为优势菌门,干旱胁迫显著增加其相对丰度。

### 参考文献:

- [1] 岳凯,魏小红,刘文瑜,等. PEG 胁迫下不同品系藜麦抗旱性评价[J]. 干旱地区农业研究,2019,37(3):52-59.
- [2] ANJUM S A, ASHRAF U, ZOHAIB A, *et al.* Growth and developmental responses of crop plants under drought stress: A review [J]. *Zemdirbyste Agriculture*, 2017, 104 (3):267-276.
- [3] 南丽丽,温素军,魏凡,等. 红豆草新品系的草产量及营养价值研究[J]. 草地学报,2020,28(2):383-388.
- [4] 南丽丽,郭全恩,谭杰辉,等. 轮作休耕模式对土壤细菌群落的影响[J]. 干旱地区农业研究,2020,38(6):128-134.
- [5] 全国草品种审定委员会. 中国审定登记草品种集(1999-2006)[M]. 北京:中国农业出版社,2008.
- [6] 李彦忠,聂红霞. 甘肃省红豆草原真菌鉴定及病害发生动态调查[J]. 植物保护学报,2016,43(2):222-232.
- [7] 伍国强,李辉,雷彩荣,等. 添加 KCl 对高盐胁迫下红豆草生长及生理特性的影响[J]. 草业学报,2019,28(6):45-55.

- [8] 于闯,南丽丽,魏永鹏. 不同红豆草材料苗期抗旱性综合评价[J]. 草原与草坪,2017,37(4):74-80.
- [9] 田丰,于闯,付双军,等. 7份红豆草对低温的生理响应及抗寒性评价[J]. 甘肃农业科技,2018(10):21-26.
- [10] 李新乐,张景波,董雪,等. 模拟增雨对荒漠植物幼苗生长和根系形态的影响[J]. 生态学报,2020,40(10):3452-3461.
- [11] 牛素贞,宋勤飞,樊卫国,等. 干旱胁迫对喀斯特地区野生茶树幼苗生理特性及根系生长的影响[J]. 生态学报,2017,37(21):7333-7341.
- [12] 南丽丽,汪堃,李小彦,等. 播量和行距对苜蓿根际土壤生物性质的影响[J]. 草地学报,2018,26(6):1330-1336.
- [13] GENG L L, SHAO G X, RAYMOND B, *et al.* Subterranean infestation by *Holotrichia parallela* larvae is associated with changes in the peanut (*Arachis hypogaea* L.) rhizosphere microbiome [J]. *Microbiological Research*, 2018, 211:13-20.
- [14] DAI L X, ZHANG G C, YU Z P, *et al.* Effect of drought stress and developmental stages on microbial community structure and diversity in peanut rhizosphere soil[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(9):2265.
- [15] MENDES R, GARBEVA P, RAAIJMAKERS J M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic and human pathogenic microorganisms [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2013, 37(5):634-663.
- [16] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2003:110-174.
- [17] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10):996-998.
- [18] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, *et al.* QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature*, 2010, 7:335-336.
- [19] WANG Q. Naive bayesian classifier for rapid assignment of Rna sequences into the new bacterial taxonomy [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16):5261-5267.
- [20] QUAST C, PRUESSE E, YILMAZ P, *et al.* The Silva ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools [J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(D1):590-596.
- [21] EDGAR R C. Muscle: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput [J]. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32(5):1792-1797.
- [22] 厉广辉,万勇善,刘凤珍,等. 不同抗旱性花生品种根系形态及生理特性[J]. 作物学报,2014,40(3):531-541.
- [23] 汪堃,南丽丽,师尚礼,等. 干旱胁迫对不同根型苜蓿根系生长及根际土壤细菌的影响[J]. 生态学报,2021,41(19):7735-7742.
- [24] EVANS S E, WALLENSTEIN M D. Soil microbial community response to drying and rewetting stress: Does historical precipitation regime matter? [J]. *Biogeochemistry*, 2012, 109(1-3):101-116.
- [25] SCHIMMEL J, BALSER T C, WALLENSTEIN M. Microbial stress response physiology and its implications for ecosystem function [J]. *Ecology*, 2007, 88(6):1386-1394.
- [26] 徐扬,张冠初,丁红,等. 干旱与盐胁迫对花生根际土壤细菌群落结构和花生产量的影响[J]. 应用生态学报,2020,31(4):1305-1313.
- [27] MARKELOVA N Y. Predacious bacteria, *Bdellovibrio* with potential for control [J]. *Int J Hyg Environ Health*, 2010, 213(6):428-431.
- [28] YANG J, MA L A, JIANG H C, *et al.* Salinity shapes microbial diversity and community structure in surface sediments of the Qinghai Tibetan Lakes [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6:25078.
- [29] 朱义族,李雅颖,韩继刚,等. 水分条件变化对土壤微生物的影响及其响应机制研究进展[J]. 应用生态学报,2019,31(4):1305-1313.
- [30] LI X Z, RUI J P, MAO Y J, *et al.* Dynamics of the bacterial community structure in the rhizosphere of a maize cultivar [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 68(1):392-401.
- [31] 鲜文东,张潇瞳,李文均. 绿弯菌的研究现状及展望[J]. 微生物学报,2020,60(9):1801-1820.

# Influence of simulated drought stress on seedling growth and bacterial communities in the rhizosphere of sainfoin

SI Hai-can, WEN Su-jun, NAN Li-li, HUO Jiu-yan, HUANG Fu, PU Han,  
XU Hao-yue

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Grassland Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** [Objective] To study the effects of drought stress on seedling growth and bacterial communities in the rhizosphere of sainfoin. [Method] Three new sainfoin lines of P1, P2, P3, *Onobrychis viciaefolia* ‘Gansu’ and *O. viciaefolia* ‘Mengnong’ were selected for simulated drought stress experiments. The microcosm experiment was conducted under four drought stress treatments by PEG-6000 with a water potential of  $-0.8$  MPa. Samples of each material were collected every 3 days. The total DNA of the seedling rhizosphere soil was extracted and deep sequencing of V4 region of 16S rRNA gene was performed to characterize the bacterial community structure of drought-treated sainfoin. [Result] Results showed that plant height and average root diameter increased, while leaf area decreased significantly with the extension of stress time. The aboveground biomass, root tip number, total root length, total root surface area, and root volume were significantly increased with increasing drought stress time, whereas underground biomass, root shoot ratio, and root activity significantly increased first and then decreased and reached the most under drought stress of 3 days. The root tip number, average root diameter, aboveground and underground biomass of new sainfoin line of P1 were significantly higher than those of other lines during the whole period of stress. The richness index of Chao1, Ace, Simpson, and Shannon-wiener decreased first and then increased dramatically. Furthermore, Chao1 and ACE indexes were the lowest under drought stress of 6 days, whereas the diversity index of Simpson and Shannon Wiener were the lowest under drought stress of 3 days. Proteobacteria, Firmicutes, Verrucomicrobia, Bacteroidetes, and Actinobacteria were dominant bacterial phyla. The relative abundance of Proteobacteria dramatically increased, while those of Firmicutes, Actinobacteria, and Verrucomicrobia evidently decreased along the stress time, whereas those of Cyanobacteria and Bacteroidetes significantly firstly decreased then increased. [Conclusion] The results provide reference for sainfoin to resist drought stress and improve water use under drought stress.

**Key words:** sainfoin; simulated drought stress; rhizosphere; bacterial community abundance