

# 内生真菌感染对禾草宿主生境土壤特性和微生物群落的影响

周 勇 郑璐雨 朱敏杰 李 夏 任安芝\* 高玉葆

南开大学生命科学学院, 天津 300071

**摘 要** 以羊草(*Leymus chinensis*)-内生真菌共生体为研究对象, 分别在野外样地和室内盆栽两种实验条件下研究了内生真菌感染对土壤特性和微生物群落结构的影响。结果显示: 在处理时间较长并伴随有枯落物分解的羊草样地中, 内生真菌感染促进了土壤氮(N)的积累, 提高了30天培养时间内土壤初始碳(C)矿化速率和前3天土壤矿化量和土壤矿化总量; 而在处理时间较短且没有地上枯落物分解的盆栽羊草中, 内生真菌感染对土壤的C、N含量及C矿化均无显著影响。无论是野外样地还是室内盆栽实验, 内生真菌感染均未引起土壤微生物磷脂脂肪酸种类的变化, 但内生真菌感染均有提高土壤微生物生物量的趋势, 内生真菌显著增加了盆栽羊草土壤中细菌、革兰氏阴性细菌、真菌磷脂脂肪酸含量和磷脂脂肪酸总量, 增加了羊草地土壤中革兰氏阳性细菌和放线菌的磷脂脂肪酸含量。总体看来, 内生真菌感染能够改变土壤N积累和C矿化率, 并且改变土壤中微生物群落的结构, 这有助于进一步认识内生真菌与羊草之间的共生关系及其在生态系统C、N循环中所起的作用。

**关键词** 碳矿化, 内生真菌, 羊草, 磷脂脂肪酸, 土壤微生物群落

## Effects of fungal endophyte infection on soil properties and microbial communities in the host grass habitat

ZHOU Yong, ZHENG Lu-Yu, ZHU Min-Jie, LI Xia, REN An-Zhi\*, and GAO Yu-Bao

College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China

### Abstract

**Aims** *Leymus chinensis* is a dominant grass native to the mid-eastern Inner Mongolia Steppe. The plants of this species are sometimes heavily infected with fungal endophytes that produce alkaloids, which in turn affect insect herbivory, plant production, and litter decomposition. Our objective was to investigate the effects of the *L. chinensis*-endophyte association on soil properties and soil microbial communities in field and pot experiments.

**Methods** We concurrently conducted a field and a pot experiment. The soil total carbon (C) and nitrogen (N) were analyzed with an Elemental Analyzer, and C mineralization was determined by using a soil incubation test over a 30-day period. Soil microbial biomass and community composition were assayed by using phospholipid fatty acid (PLFA) technique.

**Important findings** In the field experiment, where *L. chinensis* plants had grown for longer time and there was litter decomposition, fungal endophyte infection significantly increased soil N content, the initial C mineralization rate, the C mineralization during the first three days, and the accumulative C mineralization during the 30-day soil incubation. In the pot experiment, where *L. chinensis* plants had grown for shorter time and there was no litter decomposition, the soil total C and N contents and the C mineralization did not differ between the endophyte-infected (E+) and endophyte-free (E-) treatments. We found no significant difference in the types of PLFAs between the E+ and the E- treatments in both field and pot experiment, but endophyte infection tended to increase the soil microbial biomass. The PLFA contents of bacteria, gram-negative bacteria (G-), fungi, and total PLFA were significantly higher in the E+ treatment than in the E- treatment in the pot experiment; whereas in the field experiment, the PLFA contents of gram-positive bacteria (G+) and actinomycetes were significantly higher in the E+ treatment than in the E- treatment. This study suggests that endophyte infection may change the soil N accumulation and the rate of C mineralization, and alter soil microbial community structure. Our findings can help with understanding the relationship between fungal endophytes and *L. chinensis* and its role in ecosystem C and

N cycling.

**Key words** C mineralization, fungal endophyte, *Leymus chinensis*, phospholipid fatty acid, soil microbial community

内生真菌(fungal endophyte)是指存在于健康的活植物体内,并不使宿主形成明显病害症状的一类真菌(Arnold *et al.*, 2000)。内生真菌的宿主植物比较广泛,包括草本植物、灌木和针叶树等多个植物类群,其中内生真菌与禾本科植物的共生现象最为常见。已有研究表明,80多属290多种禾草中有内生真菌共生现象的存在(Clay, 1990)。目前对于与内生真菌共生的禾草的研究主要集中在高羊茅(*Festuca elata*)和黑麦草(*Lolium perenne*)等人工种植的禾草上。大量的研究表明,内生真菌与人工禾草的关系是互利共生关系,这表现在:一方面植物可以为内生真菌提供其自身无法合成的光合产物和矿物质,而另一方面,内生真菌可促进宿主植物的营养生长(Belesky & Fedders, 1995),增强宿主植物对昆虫(Bultman & Bell, 2003)和食草动物的采食(Burns & Fishers, 2006)、病原菌的危害(Latch, 1993; Christensen, 1996)等生物干扰,以及高温(Marks & Clay, 1996)、干旱(Hesse *et al.*, 2003)、低养分(Lewis, 2004)等非生物胁迫的抵抗能力。

内生真菌的影响不只限于宿主植物,还可能涉及植物所在的土壤生境。由于与禾草共生的内生真菌可以改变宿主植物中氨基酸、水溶性碳水化合物、脂质、有机酸和绿原酸等物质的含量,因此使得感染和非感染内生真菌的植株具有不同的化学组成(Rasmussen *et al.*, 2007, 2008),这一差异不仅直接影响到植物的分解(Omacini *et al.*, 2004),而且对宿主所在生境的土壤理化性质和土壤微生物都可能产生间接的影响,如果染菌植株枯落物所营造的微生物对染菌植株自身的种子萌发和幼苗生长比其他非感染种类更有利,那么染菌植株将处于优势地位;如果染菌植株枯落物所营造的微生物对宿主本身的幼苗生长不利(负反馈),那么染菌植株将会被其他植物所代替。以感染内生真菌的人工禾草为材料的研究表明,内生真菌感染不仅可以改变宿主所在群落的种间关系(Clay *et al.*, 1993)、改变群落的结构和物种多样性(Clay & Holah, 1999),而且可以在一个生长季就引起土壤微生物群落的显著变化(Casas *et al.*, 2011)。然而到目前为止,关于内生

真菌对宿主所在生境影响的研究才刚刚起步,并且仅有的结论并不一致,如在以高羊茅为材料的研究中发现,内生真菌侵染能够提高宿主高羊茅生境中土壤有机C和总N的含量(Franzluebbbers & Stuedemann, 2005),降低土壤的C矿化量,同时对土壤微生物产生抑制作用(Franzluebbbers & Hill, 2005);然而也有研究表明,与不染菌的高羊茅相比,内生真菌感染促进了宿主生境土壤的C矿化能力(van Hecke *et al.*, 2005)、提高了样地中土壤微生物总量(Iqbal *et al.*, 2012)。

目前关于内生真菌与天然禾草共生关系的研究还比较少,特别是关于内生真菌-天然禾草共生体对土壤生境影响的研究还未见相关报道,本文以羊草(*Leymus chinensis*)-内生真菌共生体为研究对象,通过盆栽实验和田间实验,分别比较研究染菌羊草和非染菌羊草所在土壤生境的C含量、N含量、土壤微生物群落结构和土壤C矿化速率,探究内生真菌对宿主所在土壤生境的影响,以期深入了解两者的共生关系本质及共生体在C、N循环等生态系统物质循环中的作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

本研究选取天然禾草——羊草作为实验材料。羊草又称碱草,为多年生根茎禾草,以无性繁殖为主,分布广泛,尤以东北平原和内蒙古高原中东部地区生长最为良好,同时,羊草也是一种优良的牧草(陈孝泉等, 1989)。实验所用羊草采自内蒙古阿巴嘎旗地区,该地区羊草内生真菌的感染率为63.3%,感染的内生真菌为*Epichloë bromicola* (Zhu *et al.*, 2013),将带回的羊草通过苯胺蓝染色法鉴定染菌情况,分为感染(E+)和非感染(E-)内生真菌两部分,然后分别种植到南开大学生命科学学院野外植物样地中,建立羊草E+和E-两块样地,样地面积为20 m<sup>2</sup>,建立时间为2009年8月。

2011年4月自羊草样地中种植的E+和E-羊草,选取长势一致、数量相同的分蘖,分别播种到口径为270 mm、深度为220 mm的白色塑料盆中,E+和E-

各种12盆, 实验用土总N含量为 $0.12 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、全磷含量为 $0.186 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、有机质含量为 $4.79 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、pH为8.12。为了尽可能模拟自然环境, 本实验将每盆埋入地面时, 盆口与地面平齐, 浇水时浇等量的水, 保证实验期间有充足的供水量, 分别于2011年9月、11月和2012年9月、11月收获地上生物量, 于2012年11月收获地下生物量。

本实验采用的土壤分别为2012年11月采集的羊草样地土壤和盆栽土壤, 样地土壤的采集方法为分别在E+和E-样地取分布均匀的5个点, 每个点用土钻取深度为0–20 cm的土样, 而盆栽土壤在羊草收获后获得。将每个点和各盆中所取土样混合均匀后分为两部分, 一部分放入 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰冻保存, 用于测土壤C矿化率和土壤微生物群落结构变化, 另一部分风干, 供测定土壤C、N含量。

### 1.2 土壤C、N含量测定

测量前土样过1 mm筛后再进行测定。土壤C、N含量用元素分析仪(Vario EL/micro cube, Elementar, Hanau, Germany)进行测定。

### 1.3 磷脂脂肪酸分析

本研究采用磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFA)温和甲酯化法(Schutter & Dick, 2000)测定PLFA。为了防止PLFA提取过程中的污染, 实验所用玻璃器皿经正己烷润洗后烘干备用。取在 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存的土样, 常温下放置解冻25–45 min, 然后过1 mm筛, 称取土壤鲜样6 g, 放入离心管中, 加15 mL  $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醇化的KOH溶液, 使PLFA甲基化, 充分振荡后,  $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下反应1 h, 每10 min涡旋一次。振荡后加3 mL  $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 冰醋酸和10 mL正己烷分层离心。取上层的有机相, 氮气下吹干, 向试管中加480  $\mu\text{L}$ 体积比为1:1的正己烷:甲基叔丁基醚溶液溶解PLFA, 在GC衍生瓶中加20  $\mu\text{L}$  C19作为内标物, 将试管中溶液倒入小瓶, 依次放入气质联用色谱分析仪(Agilent 7890C 5975MSD, Agilent Technologies, Palo Alto, USA)中分析。

磷脂脂肪酸含量计算公式为:

$$PLFA (\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1} \text{ 土样}) = (PPLFA \times S \times V) / (POSTD \times D \times R \times W)$$

式中, PPLFA和POSTD分别是样品和标准物质的峰值面积, S为外标标准物质的浓度( $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ), D为稀释倍数, R为分取倍数, V为样品的测定体积( $\mu\text{L}$ ), W为烘干质量(g)。磷脂脂肪酸分子式格式一般为

(10Me/cy)X:Y $\omega$ Z(c/t), 其中X代表碳原子的数目, Y代表分子中双键的数目, Z指第一个双键距磷脂脂肪酸分子甲基( $\omega$ )的位置。10Me表示在距离分子末端第10个碳原子上有一个甲基, 后缀“c”或“t”指分子的顺反结构。cy代表分子中具有环丙基结构。

### 1.4 土壤C矿化率的测定

土壤C矿化采用普遍的室内培养、碱液吸收法(Núñez *et al.*, 2001)进行测定。取风干质量为30 g的土样, 通过调整土壤湿度使其维持恒定的土壤含水量 $\omega$ , 放入250 mL广口瓶中, 向瓶中放入一个盛有10 mL  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaOH溶液的小烧杯中, 用保鲜膜密封。另取3个广口瓶, 同样放一小烧杯, 加10 mL  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaOH溶液, 封口, 作为空白对照, 一同置于 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养。分别在第1、2、3、5、7、10、14、18、22、30天取出烧杯, 将其中溶液完全倒入三角瓶中, 加入过量的 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  BaCl<sub>2</sub>溶液及酚酞指示剂, 用 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  HCl缓慢滴定, 直至红色消失, 记录HCl用量, 利用下列公式计算得到土壤C矿化速率。

C矿化速率的计算公式为:

$$C_{\min} = (V_0 - V) \times C_{\text{HCl}} / 2 \times 44 \times 12 / 44 \times 1 / m (1 - \omega) t$$

公式中,  $C_{\min}$ 为培养期间土壤C矿化速率( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ),  $V_0$ 为空白对照消耗的HCl的体积(mL),  $V$ 为样品滴定时消耗的HCl体积(mL),  $C_{\text{HCl}}$ 为HCl浓度( $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),  $m$ 为每个广口瓶中培养土壤的湿质量(g),  $\omega$ 为土壤含水量(%),  $t$ 为培养时间(d)。

### 1.5 数据处理

采用Microsoft Excel进行数据处理和作图, 数据采用SPSS 19.0进行单因素和多因素方差分析处理。

## 2 结果

### 2.1 土壤的C、N含量

对所取土壤的总C、总N含量以及C:N进行分析, 结果如图1所示。在盆栽实验中, 内生真菌感染对所取土壤总C、N和C:N均未表现出显著影响; 在田间实验中, 染菌羊草样地土壤总N含量显著高于不染菌羊草样地( $p < 0.05$ ), 而土壤总C含量在E+和E-样地之间并没显著差异, 所求得的土壤C:N则是E-显著高于E+ ( $p < 0.05$ )。

### 2.2 土壤微生物PLFA分析

研究结果(图2)显示, 通过PLFA分析法测得羊

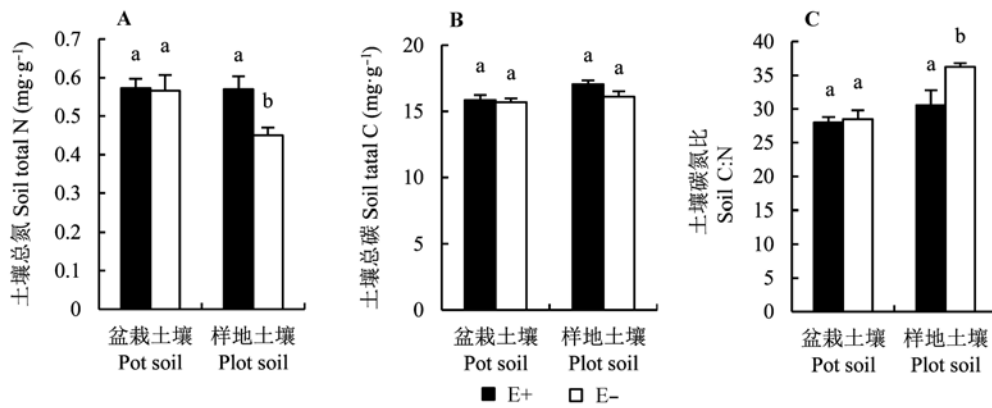


图1 内生真菌感染对盆栽土壤和样地土壤总C (A)、总N (B)和C:N比值(C)的影响(平均值±标准误差,  $n = 5$ )。E+, 染菌; E-, 不染菌。不同小写字母表示差异显著( $p < 0.05$ )。

Fig. 1 Effects of fungal endophyte infection on total C (A), total N (B), and C:N (C) in pot and field soils (mean  $\pm$  SE,  $n = 5$ ). E+, endophyte-infected; E-, endophyte-free. Different lower-case letters indicate significant differences at  $p < 0.05$ .

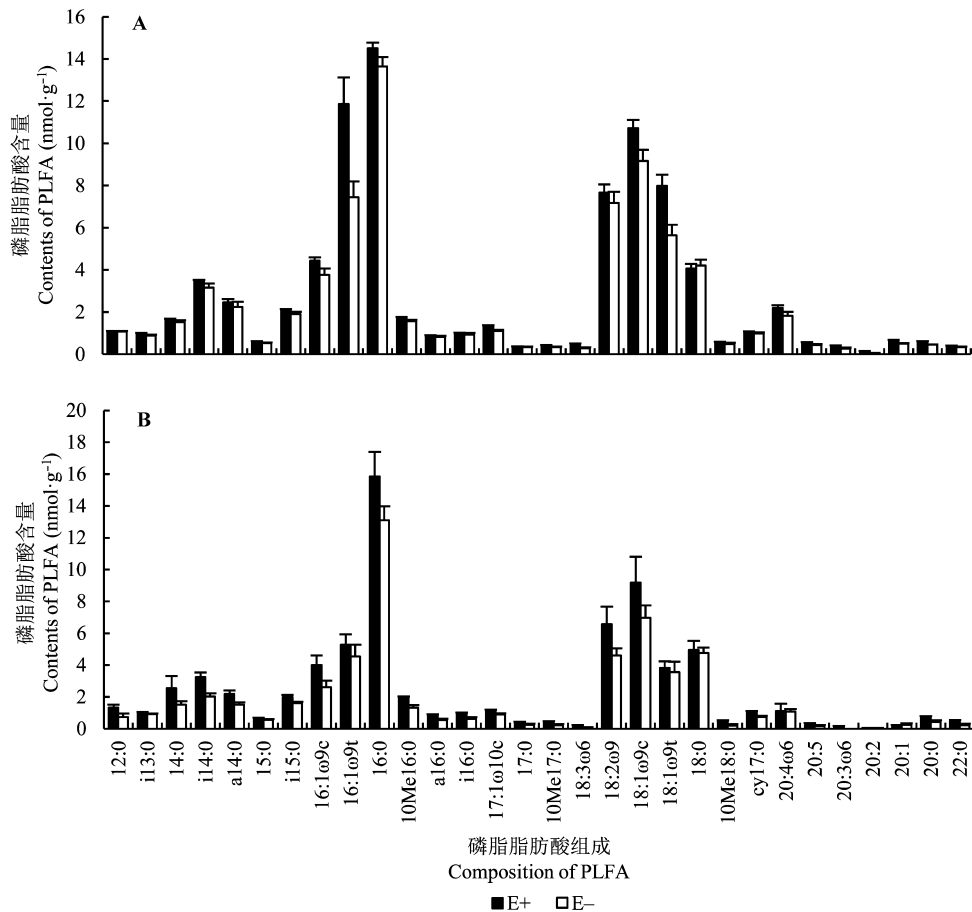


图2 不同染菌条件下土壤微生物磷脂脂肪酸(PLFA)图谱(平均值±标准误差,  $n = 5$ )。A, 盆栽土壤。B, 样地土壤。E+, 染菌; E-, 不染菌。

Fig. 2 Soil microbial phospholipid fatty acid (PLFA) profiles with different fungal endophyte infections (mean  $\pm$  SE,  $n = 5$ ). A, Pot soil. B, Field soil. E+, endophyte-infected; E-, endophyte-free.

草盆栽土壤中的生物标记PLFA种类与羊草样地土壤中的PLFA种类相同, 共30种, 含有各种饱和、不

饱和、支链和环状的PLFA。无论是盆栽土壤还是样地土壤中, E+和E-之间的PLFA种类并无差异, 且各

种PLFA的含量差异也不大。在盆栽土壤中, E+含量较高的3种PLFA依次为16:0、16:1 $\omega$ 9t和18:1 $\omega$ 9c, 占PLFA总量的43.0%, 而E-含量较高的3种PLFA依次为16:0、18:1 $\omega$ 9c和16:1 $\omega$ 9t, 占PLFA总量的41.4%; 在样地土壤中, E+含量较高的3种PLFA依次为16:0、18:1 $\omega$ 9c和18:2 $\omega$ 9, 占PLFA总量的43.4%, 而E-含量较高的3种PLFA分别为16:0、18:1 $\omega$ 9c和18:0, 占PLFA总量的44.3%。

本研究中, 将不同种类的PLFA进行归类, 用16:0、17:0、18:0来表征细菌, 15:0、i16:0表征G+, 16:1 $\omega$ 9c、cy17:0表征G-, 18:3 $\omega$ 6、18:1 $\omega$ 9表征真菌, 10Me16:0、10Me17:0、10Me18:0表征放线菌, 20:4 $\omega$ 6、20:5、20:3 $\omega$ 6表征原生动物(Iqbal *et al.*, 2012), 得到不同的土壤微生物类群。对归类结果进行分析, 结果如表1所示, 在盆栽实验中, 内生真菌感染显著增加了土壤中的细菌、G-、真菌以及土壤微生物总量( $p < 0.05$ ); 在田间实验中, 内生真菌感染显著增加了G+和放线菌含量( $p < 0.05$ ), E+样地土壤的微生物总量有高于E-的趋势, 但未达到显著差异。总体看来, 无论是盆栽实验还是田间实验, 内生真菌感染均影响了羊草所在土壤中的微生物群落。

### 2.3 土壤C矿化率

由图3可知, 30天的培养时间内, 羊草盆栽土壤和样地土壤E+与E-的土壤C矿化速率和土壤C矿化累积量的变化趋势大致相同。在培养初期, 土壤具有较高的CO<sub>2</sub>释放速率, 因此土壤C矿化速率也较高。之后随着培养时间的延长, 土壤C矿化速率迅速

下降, 最后趋于平稳。在盆栽实验中, 分别对土壤初始C矿化速率、前3天土壤C矿化累积量和土壤C矿化总累积量进行分析, 结果显示, 内生真菌感染对三者均未产生显著影响; 在田间实验中, 内生真菌感染显著提高了样地土壤的初始C矿化速率、前3天土壤C矿化累积量和土壤C矿化总累积量( $p < 0.05$ ), 说明E+土壤与E-土壤相比具有更高的土壤C矿化能力。

## 3 讨论

### 3.1 内生真菌感染对土壤C、N含量的影响

本研究的田间实验结果表明, 感染内生真菌的羊草样地土壤N含量显著高于不染菌的羊草样地, 说明内生真菌感染可能促进了土壤N的积累, 但是同时对土壤C含量并没有显著的影响。对于内生真菌感染对土壤C、N的影响, 已有的研究结果并不一致。例如, Handayani等(2011)研究表明, 虽然感染内生真菌的高羊茅可以改变土壤中不同C组分的含量, 但是对于总C量的改变并不显著; 与此相反, Franzluebbers等(1999)和Iqbal等(2012)对高羊茅的研究表明, 内生真菌感染可以提高土壤中C、N的含量, 有助于土壤中C、N的积累。本研究中表现出土壤N的积累, 其原因可能在于内生真菌可以改变植物衰老叶片的化学组成, 降低植物枯落物的分解速率(Lemons *et al.*, 2005; Siegrist *et al.*, 2010), 进而影响土壤微生物群落的结构和活性, 减少土壤微生物对有机N的分解与转化, 因此可以提高土壤中的N储

表1 不同染菌条件下盆栽和样地土壤微生物磷脂脂肪酸(PLFAs)含量(nmol·g<sup>-1</sup>) (平均值±标准误差, n = 5)

Table 1 Contents of soil microbial phospholipid fatty acids (PLFAs) in pots and field plots under different fungal endophyte infections (nmol·g<sup>-1</sup>) (mean ± SE, n = 5)

	盆栽土壤 Pot soil		样地土壤 Plot soil	
	E+	E-	E+	E-
细菌 Bacteria	37.91 ± 1.12 <sup>a</sup>	31.85 ± 1.12 <sup>b</sup>	33.15 ± 2.62 <sup>a</sup>	27.22 ± 2.32 <sup>a</sup>
革兰氏阳性细菌 Gram-positive bacteria G+	1.60 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.47 ± 0.11 <sup>a</sup>	1.60 ± 0.11 <sup>a</sup>	1.21 ± 0.13 <sup>b</sup>
革兰氏阴性细菌 Gram-negative bacteria G-	17.37 ± 1.26 <sup>a</sup>	12.20 ± 0.76 <sup>b</sup>	10.32 ± 1.12 <sup>a</sup>	7.89 ± 1.15 <sup>a</sup>
真菌 Fungi	19.19 ± 0.63 <sup>a</sup>	15.09 ± 0.65 <sup>b</sup>	13.16 ± 2.11 <sup>a</sup>	10.58 ± 1.38 <sup>a</sup>
放线菌 Actinomycetes	2.69 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.39 ± 0.14 <sup>a</sup>	2.83 ± 0.17 <sup>a</sup>	1.74 ± 0.26 <sup>b</sup>
原生动物 Protozoa	2.59 ± 0.15 <sup>a</sup>	2.09 ± 0.23 <sup>a</sup>	1.21 ± 0.55 <sup>a</sup>	1.08 ± 0.18 <sup>a</sup>
G+:G-	0.10 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>a</sup>
真菌:细菌比值 Bacteria:fungi ratio	0.51 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.48 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.39 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.02 <sup>a</sup>
PLFAs总量 Total PLFAs	86.27 ± 1.14 <sup>a</sup>	73.06 ± 1.91 <sup>b</sup>	72.88 ± 7.31 <sup>a</sup>	56.11 ± 5.27 <sup>a</sup>

E+, 染菌; E-, 不染菌。每一行中不同的字母(a, b)表示差异显著( $p < 0.05$ )。

E+, endophyte-infected; E-, endophyte-free. Different letters (a, b) within a row indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

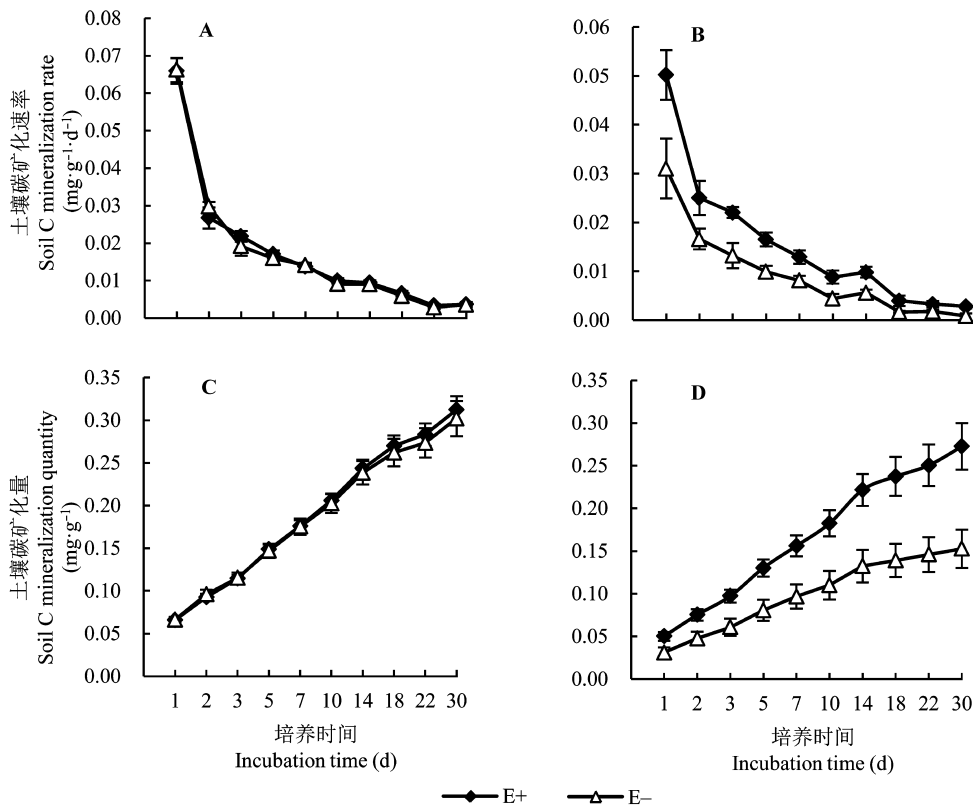


图3 不同染菌条件下土壤C矿化速率和土壤C矿化量的变化(平均值±标准误差,  $n = 5$ )。A, 盆栽土壤C矿化速率。B, 样地土壤C矿化速率。C, 盆栽土壤C矿化量。D, 样地土壤C矿化量。E+, 染菌; E-, 不染菌。

**Fig. 3** Changes in the rate and quantity of soil C mineralization under different fungal endophyte infections (mean  $\pm$  SE,  $n = 5$ ). **A**, Soil C mineralization rate in pot soil. **B**, Soil C mineralization rate in field plot. **C**, Quantity of soil C mineralization in pot soil. **D**, Quantity of soil C mineralization in field plot. E+, endophyte-infected; E-, endophyte-free.

存。但是, 本研究盆栽实验中, 内生真菌感染并没有显著地影响土壤C、N含量, 其原因可能在于盆中地上部分及时收获, 不涉及植物枯落物的分解。

### 3.2 内生真菌感染对土壤微生物群落的影响

关于内生真菌感染对宿主所在土壤的微生物含量的影响, 已有的研究多以人工禾草高羊茅为材料, 但结果不尽一致: Mack和Rudgers (2008)等发现感染内生真菌的高羊茅显著降低了土壤中丛枝菌根真菌的含量; Jenkins等(2006)发现, 感染内生真菌的高羊茅降低了土壤中多种细菌的含量; 而Handayani等(2011)和Iqbal等(2012)研究发现, 感染内生真菌的高羊茅显著提高了土壤微生物生物量。本文以天然禾草羊草为材料的研究结果表明, 无论是盆栽实验还是样地实验, 内生真菌感染均提高了宿主土壤中部分微生物类群的含量, 只是内生真菌对土壤微生物群落的这一影响在盆栽土壤中更为明显, 其原因可能在于样地土壤的异质性较大而土

壤采集的样本数较小, 从而导致重复之间的差异较大。关于内生真菌感染提高宿主土壤微生物含量的原因目前还不明确, 可能的原因是内生真菌能通过改变宿主禾草根分泌物的含量, 来增加输入到土壤中的有机营养, 进而促进土壤微生物群落的形成 (van Hecke *et al.*, 2005)。

### 3.3 内生真菌感染对土壤C矿化的影响

微生物群落的功能之一是促进土壤养分的分解与转化, 其中包括了土壤的C、N矿化 (Baumann *et al.*, 2013)。在本研究中, 内生真菌感染提高了宿主土壤的微生物含量, 同时也促进了宿主样地土壤C矿化。Iqbal等(2012)在对高羊茅的研究中也发现, 内生真菌感染在提高宿主土壤微生物生物量的同时, E+土壤的C矿化速率比E-土壤平均高5.8%, 这与本研究的结果类似, 间接地说明了内生真菌感染能够促进土壤微生物群落的活性。另外, 土壤C:N也是影响土壤C矿化速率的主要因素之一 (Giardina

*et al.*, 2001; 窦晶鑫等, 2009), 本研究田间实验中, E+和E-之间C:N均具有显著差异, 这也可能是导致羊草样地土壤C矿化显著改变的原因之一。

**基金项目** 国家自然科学基金(31270463)、教育部高等学校博士学科点专项科研基金(2013003111-0023)和国家基础学科人才培养基金(J1103503)。

**致谢** 感谢南开大学生态学实验室秦俊华、王欣禹、任慧琴在室内实验工作中给予的帮助。

## 参考文献

- Arnold AE, Maynard Z, Gilbert GS, Coley PD, Kursar TA (2000). Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecology Letters*, 3, 267–274.
- Baumann K, Dignac MF, Rumpel C, Bardoux G, Sarr A, Steffens M, Maron PA (2013). Soil microbial diversity affects soil organic matter decomposition in a silty grassland soil. *Biogeochemistry*, 114, 201–212.
- Belesky DP, Fedders JM (1995). Tall fescue development in response to *Acremonium coenophialum* and soil acidity. *Crop Science*, 35, 529–533.
- Bultman TL, Bell GD (2003). Interaction between fungal endophytes and environmental stressors influences plant resistance to insects. *Oikos*, 103, 182–190.
- Burns JC, Fisher DS (2006). Intake and digestion of ‘Jesup’ tall fescue hays with a novel fungal endophyte, without an endophyte, or with a wild-type endophyte. *Crop Science*, 46, 216–223.
- Casas C, Omacini M, Montecchia MS, Correa OS (2011). Soil microbial community responses to the fungal endophyte neotyphodium in Italian ryegrass. *Plant and Soil*, 340, 347–355.
- Chen XQ, Li YQ, Jia FS, Chen JL (1989). A study on *Aneurolepidium chinense*. *Pratacultural Science*, 6, 7–12. (in Chinese with English abstract) [陈孝泉, 李艳芹, 贾丰生, 陈吉琳 (1989). 羊草植物的研究. 草业科学, 6, 7–12.]
- Christensen MJ (1996). Antifungal activity in grasses infected with *Acremonium* and *Epichloë* endophytes. *Australasian Plant Pathology*, 25, 186–191.
- Clay K (1990). Fungal endophytes of grasses. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21, 275–297.
- Clay K, Holah J (1999). Fungal endophyte symbiosis and plant diversity in successional fields. *Science*, 285, 1742–1744.
- Clay K, Marks S, Cheplick GP (1993). Effects of insect herbivory and fungal endophyte infection on competitive interactions among grasses. *Ecology*, 74, 1767–1777.
- Dou JX, Liu JS, Wang Y (2009). Effects of amendment C/N ratio on soil organic carbon mineralization of meadow marshes in Sanjiang Plain. *Scientia Geographica Sinica*, 29, 773–778. (in Chinese with English abstract) [窦晶鑫, 刘景双, 王洋 (2009). 三江平原草甸湿地土壤有机碳矿化对C/N的响应. 地理科学, 29, 773–778.]
- Franzluebbers AJ, Hill NS (2005). Soil carbon, nitrogen, and ergot alkaloids with short- and long-term exposure to endophyte-infected and endophyte-free tall fescue. *Soil Science Society of America Journal*, 69, 404–412.
- Franzluebbers AJ, Nazih N, Stuedemann JA, Fuhrmann JJ, Schomberg HH, Hartel PG (1999). Soil carbon and nitrogen pools under low- and high-endophyte-infected tall fescue. *Soil Science Society of America Journal*, 63, 1687–1694.
- Franzluebbers AJ, Stuedemann JA (2005). Soil carbon and nitrogen pools in response to tall fescue endophyte infection, fertilization, and cultivar. *Soil Science Society of America Journal*, 69, 396–403.
- Giardina CP, Ryan MG, Hubbard RM, Binkley D (2001). Tree species and soil textural controls on carbon and nitrogen mineralization rates. *Soil Science Society of America Journal*, 65, 1272–1279.
- Handayani IP, Coyne MS, Phillips TD (2011). Soil organic carbon fractions differ in two contrasting tall fescue systems. *Plant and Soil*, 338, 43–50.
- Hesse U, Schöberlein W, Wittenmayer L, Förster K, Warnstorff K, Diepenbrock W, Merbach W (2003). Effects of neotyphodium endophytes on growth, reproduction and drought-stress tolerance of three *Lolium perenne* L. genotypes. *Grass and Forage Science*, 58, 407–415.
- Iqbal J, Siegrist JA, Nelson JA, McCulley RL (2012). Fungal endophyte infection increases carbon sequestration potential of southeastern USA tall fescue stands. *Soil Biology & Biochemistry*, 44, 81–92.
- Jenkins MB, Franzluebbers AJ, Humayoun SB (2006). Assessing short-term responses of prokaryotic communities in bulk and rhizosphere soils to tall fescue endophyte infection. *Plant and Soil*, 289, 309–320.
- Latch GCM (1993). Physiological interactions of endophytic fungi and their hosts. Biotic stress tolerance imparted to grasses by endophytes. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 44, 143–156.
- Lemons A, Clay K, Rudgers JA (2005). Connecting plant-microbial interactions above- and below-ground: a fungal endophyte affects decomposition. *Oecologia*, 145, 595–604.
- Lewis GC (2004). Effects of biotic and abiotic stress on the growth of three genotypes of *Lolium perenne* with and without infection by the fungal endophyte *Neotyphodium lolii*. *Annals of Applied Biology*, 144, 53–63.
- Mack KML, Rudgers JA (2008). Balancing multiple mutualists: asymmetric interactions among plants, arbuscular mycorrhizal fungi, and fungal endophytes. *Oikos*, 117, 310–320.
- Marks S, Clay K (1996). Physiological responses of *Festuca arundinacea* to fungal endophyte infection. *New Phytologist*, 133, 727–733.

- Núñez S, Martínez-Yrizar A, Búrqueza A, García-Oliva F (2001). Carbon mineralization in the southern Sonoran Desert. *Acta Oecologica*, 22, 269–276.
- Omacini M, Chaneton EJ, Ghersa CM, Otero P (2004). Do foliar endophytes affect grass litter decomposition? A microcosm approach using *Lolium multiflorum*. *Oikos*, 104, 581–590.
- Rasmussen S, Parsons AJ, Bassett S, Christensen MJ, Hume DE, Johnson LJ, Johnson RD, Simpson WR, Stacke C, Voisey CR, Xue H, Newman JA (2007). High nitrogen supply and carbohydrate content reduce fungal endophyte and alkaloid concentration in *Lolium perenne*. *New Phytologist*, 173, 787–797.
- Rasmussen S, Parsons AJ, Fraser K, Xue H, Newman JA (2008). Metabolic profiles of *Lolium perenne* are differentially affected by nitrogen supply, carbohydrate content, and fungal endophyte infection. *Plant Physiology*, 146, 1440–1453.
- Schutter ME, Dick RP (2000). Comparison of fatty acid methyl ester (FAME) methods for characterizing microbial communities. *Soil Science Society of America Journal*, 64, 1659–1668.
- Siegrist JA, McCulley RL, Bush LP, Phillips TD (2010). Alkaloids may not be responsible for endophyte-associated reductions in tall fescue decomposition rates. *Functional Ecology*, 24, 460–468.
- van Hecke MM, Treonis AM, Kaufman JR (2005). How does the fungal endophyte *Neotyphodium coenophialum* affect tall fescue (*Festuca arundinacea*) rhizodeposition and soil microorganisms? *Plant and Soil*, 275, 101–109.
- Zhu MJ, Ren AZ, Wen W, Gao YB (2013). Diversity and taxonomy of endophytes from *Leymus chinensis* in the Inner Mongolia Steppe of China. *FEMS Microbiology Letters*, 340, 135–145.

责任编辑: 郭良栋 责任编辑: 王 葳