

DOI: 10.5846/stxb201612262668

张海芳,刘红梅,赵建宁,李刚,赖欣,李洁,王慧,杨殿林.贝加尔针茅草原土壤真菌群落结构对氮素和水分添加的响应.生态学报,2018,38(1): 195-205.

Zhang H F, Liu H M, Zhao J N, Li G, Lai X, Li J, Wang H, Yang D L. Response of soil fungal community structure to nitrogen and water addition in *Stipa baicalensis* steppe. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(1): 195-205.

贝加尔针茅草原土壤真菌群落结构对氮素和水分添加的响应

张海芳,刘红梅,赵建宁,李刚,赖欣,李洁,王慧,杨殿林*

农业部环境保护科研监测所,天津 300191

摘要:研究氮沉降和降雨变化对土壤真菌群落结构的互作效应,对未来预测多个气候变化因子对草地生态系统的交互作用具有重要意义。以施氮和灌溉模拟氮沉降和降雨增加,采用裂区设计,应用高通量测序技术,研究 8 个氮添加水平(0、15、30、50、100、150、200、300 kg N hm⁻² a⁻¹)和 2 个水分添加水平(不灌溉、模拟夏季增雨 100 mm 灌溉)对土壤真菌群落结构的影响。结果表明,氮素和水分添加后,土壤真菌群落中占优势的门类分别为接合菌门 Zygomycota(22.0%—48.9%)、担子菌门 Basidiomycota(7.8%—18.5%)、子囊菌门 Ascomycota(9.4%—20.1%)、球囊菌门 Glomeromycota(0.7%—3.1%)、壶菌门 Chytridiomycota(0.1%—1.3%)。常规降雨条件下,随着氮添加水平升高,接合菌门相对丰度呈现出先升高后降低的趋势,N50 处理最高;子囊菌门相对丰度在高氮添加时(N100—N300)呈升高趋势。而在氮素和水分同时添加条件下,随着氮添加水平升高,接合菌门相对丰度呈降低趋势,子囊菌门相对丰度变化则不明显。在相同的氮添加水平下,水分添加使接合菌门相对丰度增加,而担子菌门、子囊菌门、球囊菌门和壶菌门的相对丰度降低。在不同氮素和水分添加条件下,有 5 个土壤真菌门类 11 个真菌纲相对丰度变化显著。接合菌门的 *Mortierella* 属,担子菌门的 Entolomataceae 科和 *Geastrum* 属相对丰度变化极显著,可作为土壤真菌群落结构变化的指示种。PCoA 分析结果也表明氮素和水分添加改变了土壤真菌群落结构。植物-土壤-微生物系统的结构方程模型结果表明,植物群落组成及植物物种丰富度的变化是土壤真菌群落结构发生变化的主要影响因素,土壤无机氮及 pH 的变化主要通过影响植物群落间接影响真菌群落,其对真菌群落的直接影响则较小。综上,氮素和水分添加改变了土壤真菌群落结构,且两者存在明显的互作效应,水分添加可改变氮添加对土壤真菌群落的影响。

关键词:氮沉降;降雨变化;贝加尔针茅草原;土壤真菌群落;高通量测序

Response of soil fungal community structure to nitrogen and water addition in *Stipa baicalensis* steppe

ZHANG Haifang, LIU Hongmei, ZHAO Jianning, LI Gang, LAI Xin, LI Jie, WANG Hui, YANG Dianlin*

Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China

Abstract: Nitrogen (N) deposition and precipitation change are important phenomena in global climate change and can greatly influence grassland ecosystems. Soil fungal communities are a functionally diverse group and they mediate many ecological processes as well as influence plant growth and soil health. There have been many studies on the responses of plant and soil bacterial communities to N addition. However, the interactive effects of N and water addition on soil fungal communities remain largely unknown, with these interacting effects having great significance for predicting the future effects of multiple climate factor changes on grassland ecosystems. In the present study, we simulated N deposition and

基金项目:国家自然科学基金项目(31170435)

收稿日期:2016-12-26; 网络出版日期:2017-09-12

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yangdianlin@caas.cn

precipitation change by N addition (0, 15, 30, 50, 100, 150, 200, and 300 kg N hm⁻² a⁻¹) and irrigation (no irrigation and irrigation equivalent to 100 mm extra summer rainfall). Utilizing split-plot design and high-throughput sequencing technology, we evaluated the interactive effects of N and water addition on soil fungal community structure. Statistical analyses showed that N and water addition significantly shifted the composition and relative abundance of soil fungal communities. The dominant fungal phyla were Zygomycota (22.0%—48.9%), Basidiomycota (7.8%—18.5%), Ascomycota (9.4%—20.1%), Glomeromycota (0.7%—3.1%), and Chytridiomycota (0.1%—1.3%). Under normal precipitation, the relative abundance of Zygomycota increased in N1—N50 treatments and decreased in N100—N300 treatments. The relative abundance of Ascomycota increased in the N100—N300 treatments. When water was added, the relative abundance of Zygomycota decreased; however, the relative abundance of Ascomycota showed no significant change. At identical N levels, water addition increased the relative abundance of Zygomycota; however, the relative abundance of Basidiomycota, Ascomycota, Glomeromycota, and Chytridiomycota decreased. The relative abundance of all 5 fungal phyla and 11 fungal Classes shifted significantly under different N and water addition rates. The changes in soil fungal community structure are mainly related to the changes in relative abundance of genus *Mortierella*, family Entolomataceae, and genus *Geastrum*. Hence, genus *Mortierella*, family Entolomataceae and genus *Geastrum* could be utilized as indicator species to signify changes in soil fungal community structure. The results of Principal Coordinate Analysis (PCoA) also revealed that N and water addition significantly modified the structure of the soil fungal community. Structural equation modeling of the integrated response of the plant-soil-microbe system to N and water addition demonstrated that plant community composition and plant species richness were the main factors causing shifts in the soil fungal community. Soil inorganic N and pH indirectly affected the structure of soil fungal community via the plant community. Overall, N and water addition changed the structure of the soil fungal community by interactively affecting the relative abundance of different soil fungal phyla. Therefore, water addition modified the effects of N addition on the soil fungal community.

Key Words: N deposition; precipitation change; *Stipa baicalensis* steppe; soil fungal community; high-throughput sequencing

在过去的 30 多年,中国地区农业和非农业生态系统中的氮沉降持续增加,从 1980 年到 2010 年,平均每年总氮沉降增加了 0.41 kg N hm⁻² [1]。过量氮沉降同时影响生态系统和人类健康 [1]。土壤真菌群落是生态系统中具有功能多样化的类群,参与很多生态过程,并影响植物生长和土壤健康 [2]。耕作措施 [3]、土地利用方式 [4]、外来种入侵 [5]、气候变化 [6] 等均可导致土壤真菌群落结构及多样性发生变化。土壤真菌群落的变化可指示土壤食物网和生态系统功能对气候变化响应的敏感度 [7]。之前研究表明增加氮输入将提高土壤氮可利用性并降低土壤 pH [8-9],导致真菌生物量 [10] 及某些真菌门类的相对丰度 [11-12] 降低,进而改变真菌群落组成 [13]。

降雨变化是全球气候变化的另一个重要现象。降雨变化直接影响土壤含水量,并决定提供给植物和微生物的水分可利用性 [14],且养分可利用性与降雨显著正相关 [15]。土壤含水量是影响微生物群落结构的主要因素之一 [16]。降雨状况可改变氮沉降对土壤微生物群落结构及多样性的影响 [17]。气候变化的各种现象并非单独出现,多因子互作可能对生态系统产生不同于我们预期的影响,Eisenhauer 等提出未来尤其需要加强对多因子互作效应的研究 [18]。国内外已有大量研究报道了氮添加或水分添加对草地生态系统植物和土壤微生物群落的影响,而氮素和水分在土壤微生物群落变化中的互作效应,尤其是土壤微生物群落变化的驱动因素尚未完全探明。

本文通过施氮和增雨模拟氮沉降和降雨增加,研究不同氮素和水分输入条件下土壤真菌群落结构的变化,以期多个气候变化因子共同作用条件下,草地生态系统的可持续发展及草原土壤质量评价的微生物学指标体系建立提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验区域概况及试验设计

试验区域概况、试验设计及基本土壤理化性质详见参考文献^[19]。试验样地位于内蒙古呼伦贝尔贝加尔针茅草原(119°42'E, 48°30'N)。海拔高度 760—770 m, 年均降雨量约 329mm, 土壤类型为栗钙土。主要植被类型为贝加尔针茅(*Stipa baicalensis*)和羊草(*Leymus chinensis*)。试验于 2010 年开始进行, 采用裂区设计, 主区为灌溉处理, 副区为施氮处理。氮处理设 8 个水平, 依次为: 0(CK)、15、30、50、100、150、200、300 kg N hm⁻² a⁻¹(不包括大气沉降的氮量), 分别用 N0、N15、N30、N50、N100、N150、N200、N300 表示。氮肥选用 NH₄NO₃。灌溉设 2 个处理, 分别为不灌溉、模拟夏季增雨 100 mm 灌溉, 分别用 I0 和 I1 表示。NOI0 表示常规降雨下施氮水平为 0 kg N hm⁻²a⁻¹的处理, 依此类推。模拟增雨的时间自 2010 年 6 月 15 日始, 每 7 d 模拟增雨 10 mm, 共 10 次。试验共 16 个处理, 6 次重复, 小区面积 8 m × 8 m。

1.2 土壤样品采集

于 2013 年 8 月采集土壤样品, 用直径 3cm 的土钻在各试验小区采集 0—20cm 土壤, 每个小区采集 10 个点组成一个混合土样, 去除动植物残体后过 2mm 筛, 然后采用四分法选取 1kg 土样带回实验室, 存于 -20℃ 冰箱备用。

1.3 土壤 DNA 提取及 PCR 扩增

土壤总 DNA 采用 E.Z.N.A. Soil DNA Kit (OMEGA)试剂盒进行提取, 提取方法参照试剂盒说明书。每个样品提取 3 个平行, 分别进行 PCR 扩增, 然后在测序前将 3 个平行混合后进行测序^[20]。利用 Qubit2.0 DNA 检测试剂盒对基因组 DNA 精确定量, 以确定 PCR 反应应加入的 DNA 量。PCR 所用引物为融合了 Miseq 测序平台的通用引物, 引物序列为 ITS1-F: 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3' 和 ITS2: 5'-GCTGCGTTCTTCA TCGATGC-3'^[21]。热启动 PCR 反应体系如下: 10×PCR buffer 5μL, dNTP (10mmol/L each) 0.5μL, 基因组 DNA 10ng, Bar-PCR Primer F (50μmol/L) 1μL, Primer R (50μmol/L) 1μL, PlantiumTaq (5U/μL) 0.5μL, 加去离子水至 50μL。反应条件如下: 94°3min 预变性, 94°1min, 54°30s, 72°1min 进行 30 个循环, 最后 72°延长 7min。PCR 结束后, 对 PCR 产物进行琼脂糖电泳, 采用上海生工琼脂糖回收试剂盒 (cat:SK8131) 对 DNA 进行回收, 回收产物用 Qubit2.0 定量, 根据测得的 DNA 浓度, 将所有样品按照 1:1 进行混合并充分震荡均匀。该混合样品用于后续样品建库(加测序标签)与测序。

1.4 测序

采用 Illumina Miseq 测序平台进行高通量测序, 测序过程由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。

1.5 数据处理和统计分析

采用 Flash (FLASH v1.2.7) 软件融合序列, 然后根据 barcode 将序列回归到样品。采用 Prinseq (PRINSEQ-lite 0.19.5) 软件对序列数据进行质量控制。去除非靶区域序列及嵌合体。根据 Shannon 指数稀疏曲线, 选择 1000 条 reads 进行分析。去除非真菌序列, 使用 BLAST 方法将序列进行物种分类。

数据采用 Excel 2007 进行整理, 不同处理下土壤真菌群落组成及丰度的差异显著性采用软件 Galaxy (<https://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy>) 的 LEfSe 组件 (Linear Discriminant Analysis (LDA) effect size) 进行分析。LDA 得分 2.0 表示差异显著, 得分 4.5 表示差异极显著^[22]。土壤真菌群落组成的变化通过主成分分析得到, 用第一主成分 (PC1) 代表真菌群落结构的变化, 用于氮素和水分互作效应分析。为了解氨水添加条件下土壤真菌群落结构变化的机制, 结合植物和土壤理化性质的变化, 我们构建了结构方程模型 (Structural equation modeling)。结构方程模型的构建基于以下理论假设: 氮素和水分添加改变了土壤理化环境及植物群落组成, 进而影响土壤微生物群落组成^[9]。采用最大似然法将数据与模型进行拟合, 通过去除观测变量之间的关系提升模型的拟合度, 以 RMSEA 值 (<0.05) 表示模型拟合良好^[9]。

氮素和水分添加的互作效应采用 SAS 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 的裂区设计方差分析。采

用 AMOS 21.0 (IBM SPSS Inc., Chicago, IL) 构建结构方程模型。

2 结果与分析

2.1 土壤真菌群落组成及相对丰度

所有处理测序共得到 13559909 条序列,每个处理所测得的序列数约为 53852—307368 条,每个处理得到的 OTU 数为 3905—12375。在常规降雨条件下,土壤真菌群落中占优势的门类分别为接合菌门 Zygomycota (22.0%—29.6%)、担子菌门 Basidiomycota (9.6%—18.8%)、子囊菌门 Ascomycota (13.0%—20.1%)、球囊菌门 Glomeromycota (1.1%—3.1%)、壶菌门 Chytridiomycota (0.1%—1.3%) (图 1)。随着氮添加水平升高,接合菌门相对丰度呈现出先升高后降低的趋势,在 N50 处理时最高;子囊菌门相对丰度在高氮添加时 (N100—N300) 呈升高趋势。在氮素和水分同时添加条件下,土壤真菌群落中占优势的门类分别为接合菌门 Zygomycota (31.5%—48.9%)、担子菌门 Basidiomycota (7.8%—16.3%)、子囊菌门 Ascomycota (9.4%—14.0%)、球囊菌门 Glomeromycota (0.7%—1.6%)、壶菌门 Chytridiomycota (0.1%—0.3%) (图 1)。随着氮添加水平升高,接合菌门相对丰度呈降低趋势,子囊菌门相对丰度变化则不明显。在相同的氮添加水平下,水分添加使接合菌门相对丰度增加了 6.3%—23.0%,而担子菌门、子囊菌门、球囊菌门和壶菌门的相对丰度分别降低了 6.2%—11.0%、1.7%—10.5%、0.2%—1.9% 和 0.1%—1.1%。以主成分 1 (PC1) 代表土壤真菌群落结构的变化 (文献) 进行方差分析,结果表明在同样的氮添加水平下,与常规降雨相比,水分添加显著改变了土壤真菌群落结构 ($P < 0.05$) (图 1)。

2.2 不同处理土壤真菌群落差异

图 2 和图 3 显示了在不同处理中有显著差异的真菌门和纲。由图 2 可知,在不同氮素和水分输入条件下,5 个土壤真菌门类相对丰度均变化显著,其中 4 个真菌门相对丰度峰值出现在常规降雨低氮 (N15) 和中氮 (N100—N150) 添加水平。差异最显著的为接合菌门,其相对丰度在 N011 处理最高。在对氮添加响应明显的真菌类群里有一大部分仍未被分类,这说明还有很多对氮添加响应敏感的类群有待发现探明。由图 3 可知,有 11 个真菌纲相对丰度变化显著,其中有 6 个纲的相对丰度峰值出现在常规降雨 N100—N150 处理。

2.3 土壤真菌群落系统发育树

图 4 和图 5 显示了 LDA 得分值 2.0 和 4.5 时不同处理土壤真菌群落系统发育树,黄色表示丰度没有显著变化,有显著差异的类群根据处理进行着色,圆圈直径大小表示相对丰度大小。由图可知,在不同氮素和水分添加条件下,共 39 个属发生了显著变化。在 LDA 得分值 4.5 的极显著差异水平下,接合菌门的 *Mortierella* 属,担子菌门的 *Entolomataceae* 科和 *Geastrum* 属相对丰度变化显著,其中 *Mortierella* 属相对丰度在 N011 处理时最高, *Entolomataceae* 科相对丰度在 N10010 处理时最高, *Geastrum* 属相对丰度在 N5011 处理中最高。同时他们在整个真菌群落中的相对丰度较高,这说明氮素和水分输入增加后,土壤真菌群落结构的变化主要与 *Mortierella* 属、*Entolomataceae* 科和 *Geastrum* 属的变化有关。

2.4 土壤真菌群落结构主坐标分析 (PCoA)

由图 6 可知,不同处理土壤真菌群落结构的变化主要表现为沿 P1 轴的分布差异。在常规降雨条件下,土壤真菌群落结构随氮添加水平的变化主要表现为沿 P1 负轴的分布差异。在氮水同时添加条件下,土壤真菌群落结构的变化主要表现为沿 P1 正轴的分布差异。与常规降雨相比,水分添加使土壤真菌群落结构的分布区域由 P1 负轴变为 P1 正轴,这说明水分的添加改变了氮添加对土壤真菌群落结构的影响。

2.5 植物-土壤-微生物系统对氮素和水分添加的综合响应

为了找出土壤真菌群落结构变化的驱动因素,通过构建结构方程模型研究了植物-土壤-微生物系统对氮素和水分添加的综合响应 (图 7)。在只有氮添加条件下,最终模型拟合结果为: $\chi^2 = 8.04, P = 0.71, RMSEA = 0.00$, 说明模型适配良好 (图 7a)。该模型解释了 NO_3^- -N 含量 56% 的变化, NH_4^+ -N 含量 15% 的变化, pH 22% 的变化, 植物群落组成 67% 的变化, 植物物种丰富度 48% 的变化, 以及真菌群落结构 10% 的变化。氮添加显著

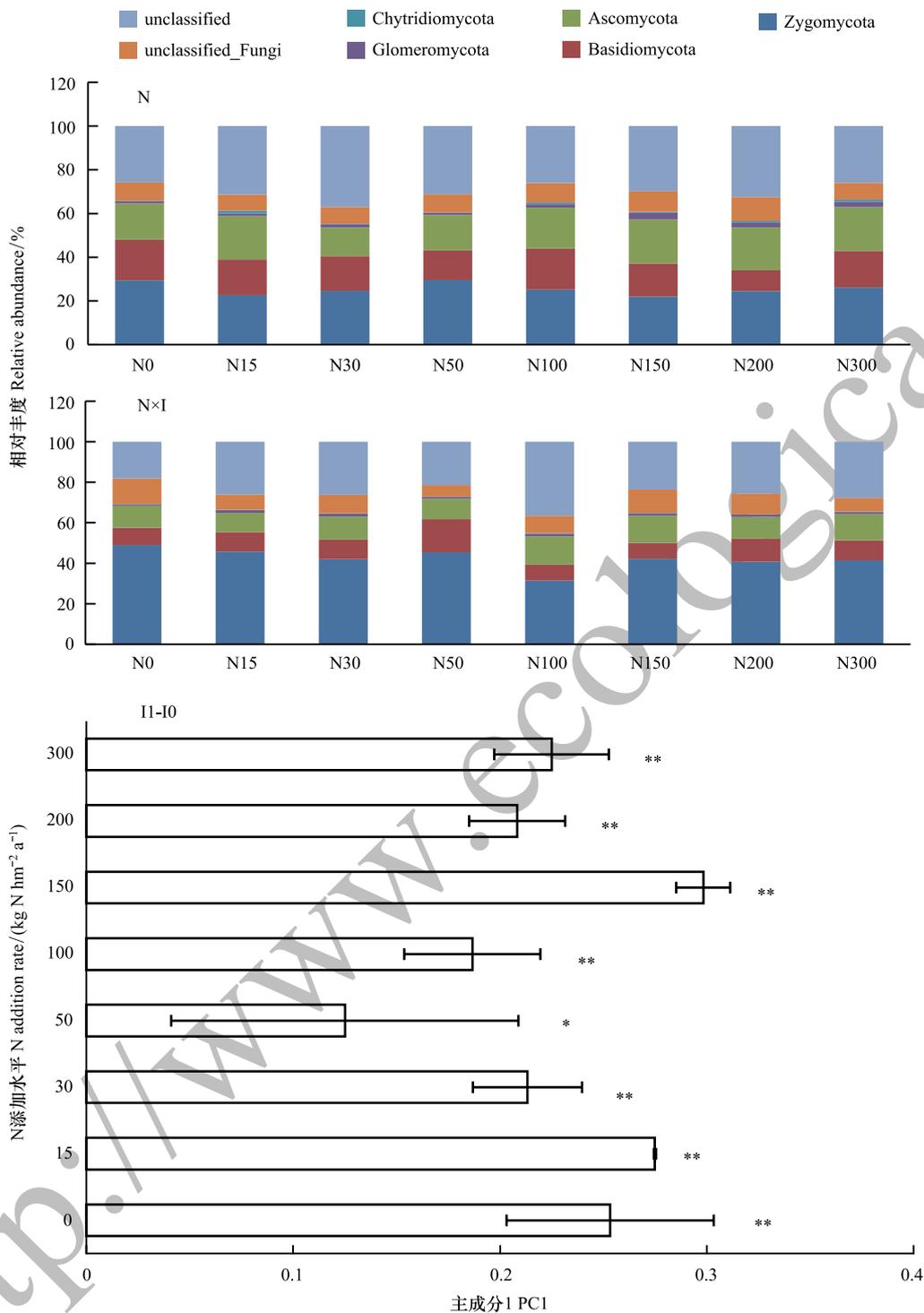


图1 不同处理土壤真菌不同门类相对丰度变化

Fig.1 Changes in relative abundance of different fungal phylum in different treatments

* 和 ** 分别表示 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$

提高了土壤无机氮的含量($P < 0.01$),并显著降低了土壤 pH($P < 0.001$)。NO₃⁻-N 含量的增加显著改变了植物群落组成($P < 0.001$),pH 的降低显著减少了植物物种丰富度($P < 0.01$)。植物群落组成及植物物种丰富度的变化导致土壤真菌群落组成发生变化。在氮素和水分同时添加条件下,最终模型拟合结果为: $\chi^2 = 9.39$, $P = 0.40$,RMSEA=0.04,说明模型适配良好(图 7b)。该模型解释了 NO₃⁻-N 含量 57%的变化,pH 12%的变化,土

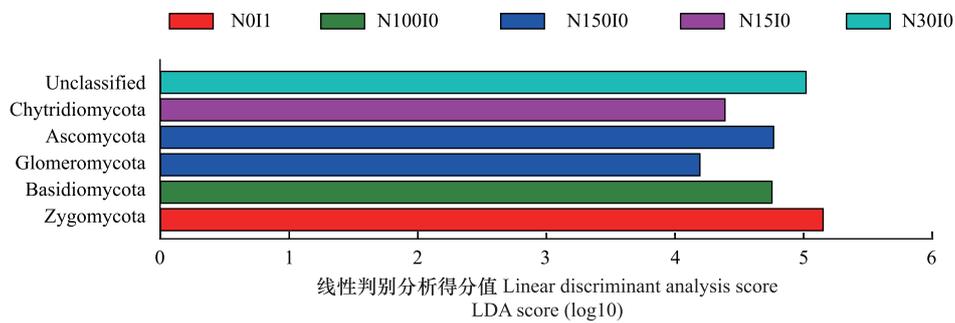


图2 不同处理条件下差异显著的真菌门类

Fig.2 The significantly changed fungal phylum under different treatments

Unclassified: 未分类真菌; Chytridiomycota: 壶菌门; Ascomycota: 子囊菌门; Glomeromycota: 球囊菌门; Basidiomycota: 担子菌门; Zygomycota: 接合菌门

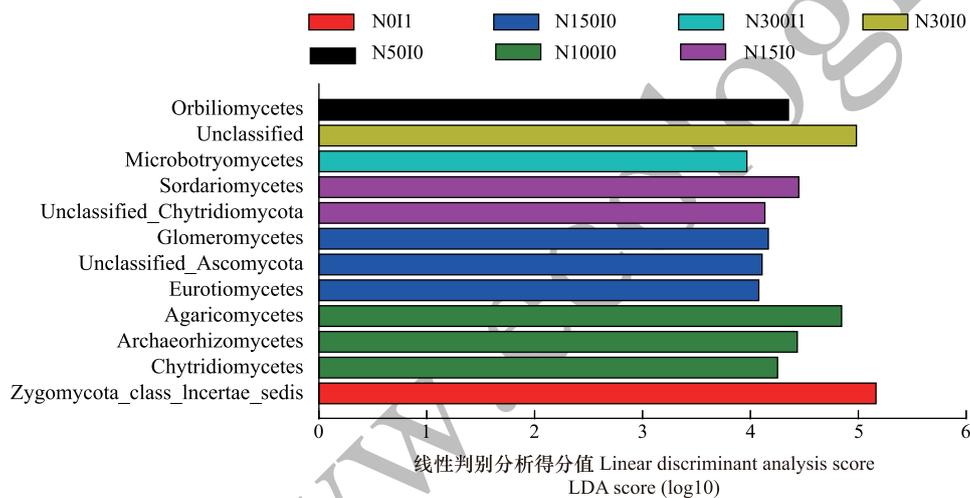


图3 不同处理条件下差异显著的真菌纲

Fig.3 The significantly changed fungal classes under different treatments

Orbiliomycetes: 圆盘菌纲; Unclassified: 未分类真菌; Sordariomycetes: 粪壳菌纲; Glomeromycetes: 球囊菌纲; Eurotiomycetes: 散囊菌纲; Agaricomycetes: 伞菌纲; Chytridiomycetes: 壶菌纲

壤含水量 8% 的变化, 植物群落组成 25% 的变化, 植物物种丰富度 52% 的变化, 以及真菌群落结构 18% 的变化。氮素和水分添加显著提高了土壤无机氮的含量 ($P < 0.01$), 并显著降低了土壤 pH ($P < 0.05$)。NO₃-N 含量的增加显著改变了植物群落组成和植物物种丰富度 ($P < 0.05$), pH 的降低主要影响植物群落的变化。植物群落组成及植物物种丰富度的变化仍然是土壤真菌群落组成发生变化的主要影响因素。在两种水分添加条件下, 土壤无机氮和 pH 的变化主要通过改变植物群落组成及丰富度来影响土壤真菌群落结构, 而它们对土壤真菌群落结构变化的直接影响则不显著。

3 讨论

3.1 常规降雨条件下氮素添加对土壤真菌群落结构的影响

在草地生态系统中, 氮素具有双面性, 氮素对于植物生长来说是一种限制因子, 适量输入可以为植物生长提供营养, 但过量输入则可能对生态系统造成负面影响^[23-24]。在常规降雨条件下, 随着氮添加水平升高, 优势门类接合菌门相对丰度呈现出先升高后降低的趋势, 子囊菌门相对丰度呈升高趋势。子囊菌门是土壤中的关键分解群落^[25], 研究发现相对高的土壤氮含量可以提高子囊菌门的相对丰度^[13]。PCoA 分析结果也表明

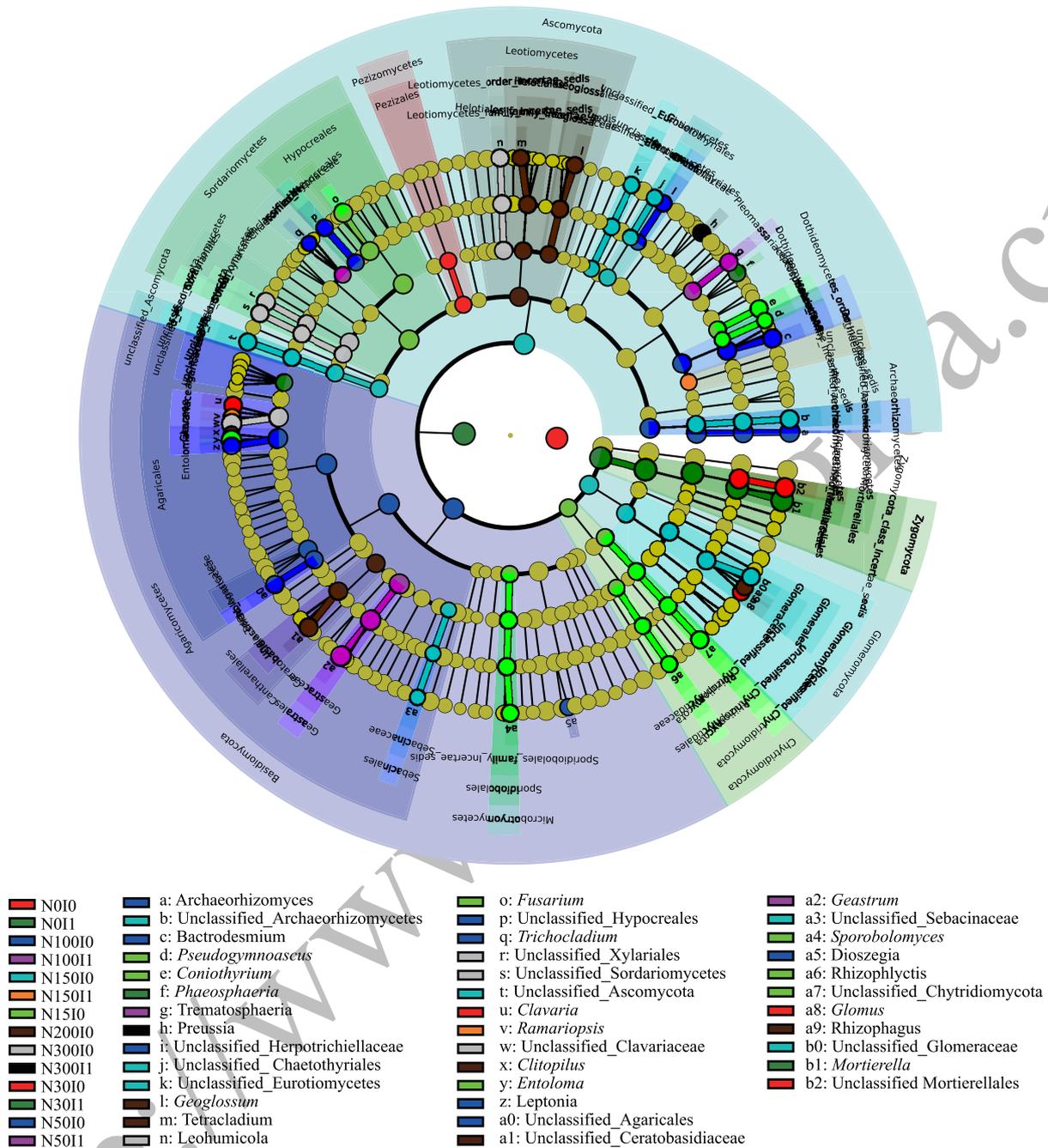


图 4 不同处理土壤真菌群落系统发育树 (LDA 阈值 2.0)

Fig.4 The cladogram of soil fungalcommunity under different treatments (LDA score = 2.0)

Pseudogymnoascus:假裸囊菌属; *Coniothyrium*:盾壳霉属; *Phaeosphaeria*:球腔菌属; *Geoglossum*:石花霉属; *Fusarium*:镰刀菌属; *Trichocladium*:无梗孢属; *Clavaria*:珊瑚菌属; *Ramariopsis*:拟枝瑚菌属; *Clitopilus*:斜盖伞属; *Entoloma*:粉褶菌属; *Geastrum*:地星菌属; *Sporobolomyces*:掷孢酵母菌属; *Glomus*:球囊霉属; *Mortierella*:被孢霉属

氮添加明显改变了土壤真菌群落结构。之前研究也得到了类似的结果, Paungfoo-Lonhienne 等研究表明氮肥施用强烈改变了土壤真菌群落组成, 氮肥施用量的增加对土壤碳循环有潜在的负面影响, 同时提高了具有病原菌特性的真菌属所占比例^[13]; Zhou 等^[26] 和毕明丽等^[27] 的研究也表明长期施氮不但降低了土壤真菌多样性, 而且改变了真菌群落组成。这可能主要是因为氮输入增加后土壤硝态氮含量升高导致土壤 pH 降低^[8] 并改变土壤 C:N:P 化学计量比^[28], 进而改变地上和地下群落, 改变土壤微生物群落结构及生物量^[29]。结构方

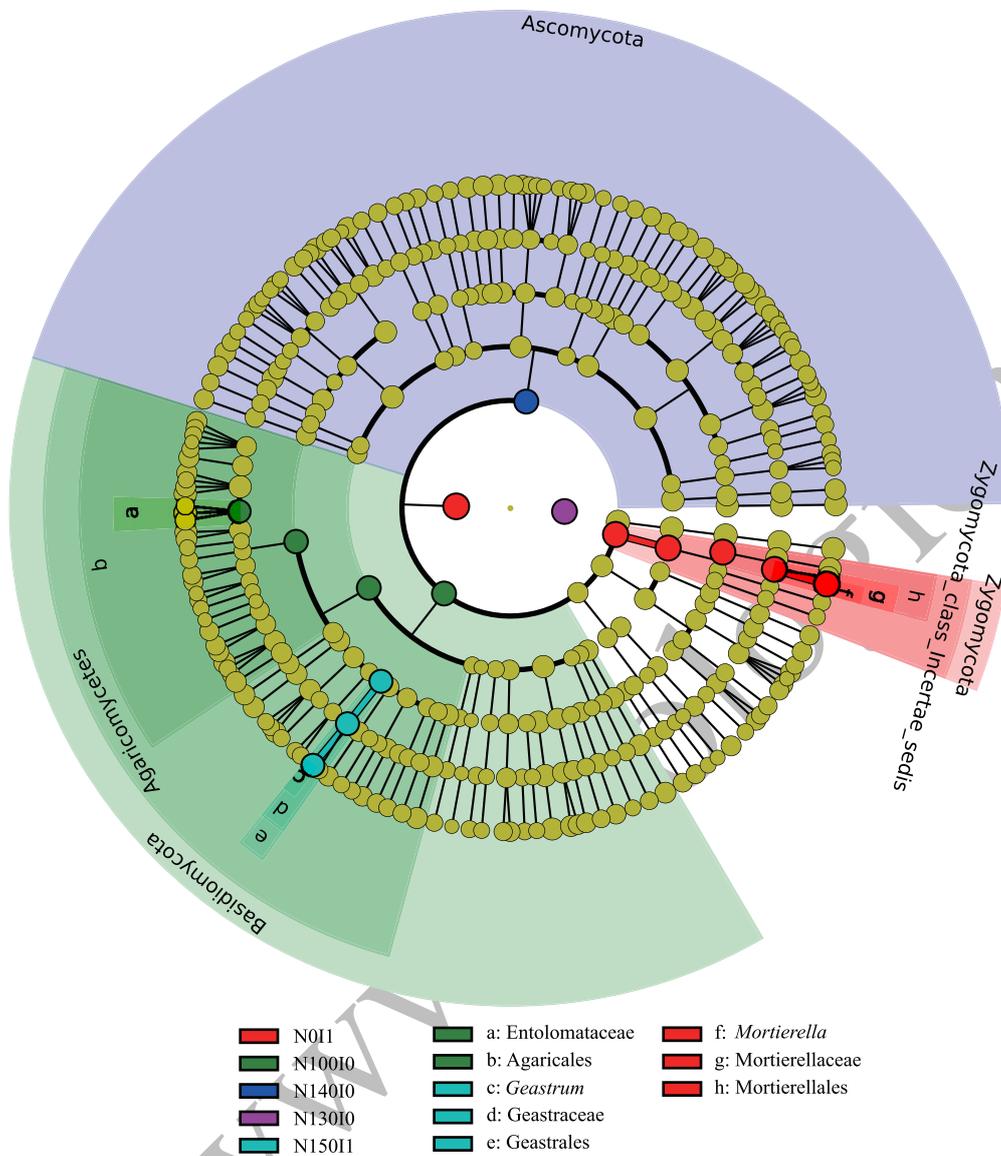


图5 不同处理土壤真菌群落系统发育树(LDA 阈值 4.5)

Fig.5 The cladogram of soil fungal community under different treatments (LDA score = 4.5)

Entolomataceae: 粉褶菌科; Agaricales: 伞菌目; *Geastrum*: 地星菌属; Geastraceae: 地星菌科; Geastrales: 地星目; *Mortierella*: 被孢霉属; Mortierellaceae: 被孢霉科; Mortierellales: 被孢霉目

程模型分析结果也表明土壤理化因子和地上植物群落的变化共同影响土壤真菌群落结构,氮添加后植物群落组成及植物丰富度的变化是土壤真菌群落结构发生变化的主要影响因素,而土壤无机氮及 pH 的变化对土壤真菌群落结构变化的直接影响则较小,其主要通过改变植物群落进而影响真菌群落结构。Cassman 等研究也表明,长期施用无机肥的草地中,植物群落与土壤真菌群落的联系要比与细菌的联系更为紧密^[30]。此外,有研究表明土壤真菌群落的变化与土壤总氮含量^[31]、土壤含水量和 pH 值显著相关^[32]。这表明未来氮沉降若持续增加将显著影响土壤真菌群落结构。

3.2 氮素和水分同时添加对土壤真菌群落结构的影响

土壤水分状况直接影响养分可利用性。与植物多样性和土壤养分相比,降雨是影响土壤真菌群落结构的一个更重要的因素^[33-34]。本研究中,与常规降雨相比,水分添加后土壤真菌门类相对丰度呈现出不同的变化趋势,且土壤真菌群落组成与仅有氮添加时相比变化显著。水分添加改变了土壤真菌群落组成及不同门类相对丰度对氮添加的响应。PCoA 分析的结果也表明水分添加改变了氮添加对土壤真菌群落结构的影响,氮素

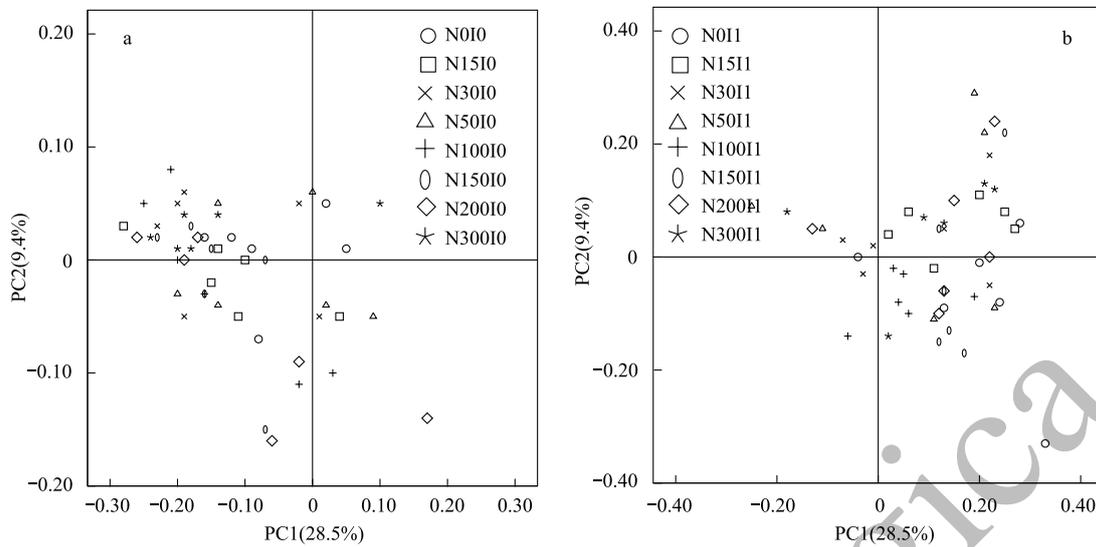


图 6 土壤真菌群落结构主坐标分析

Fig.6 The PCoA results of fungal community structure

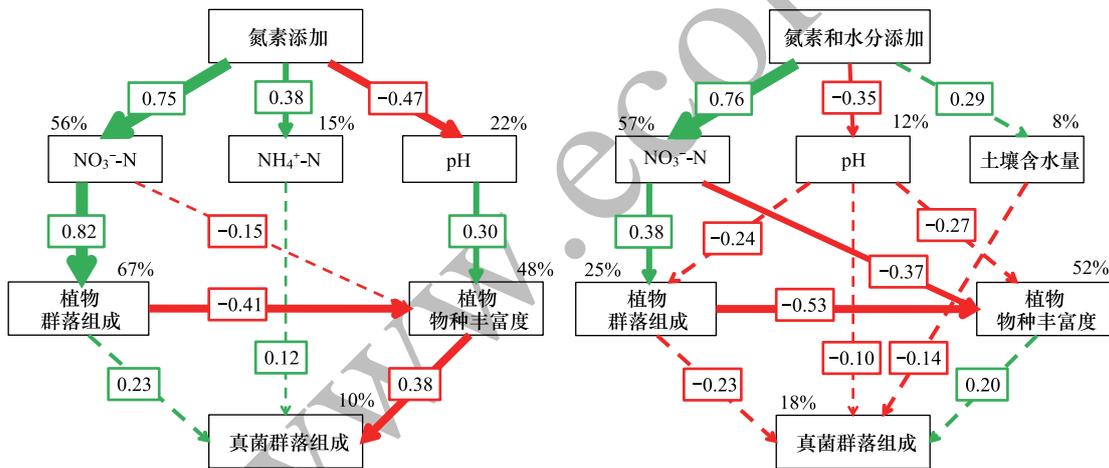


图 7 氮素和水分添加对植物-土壤-微生物系统影响的结构方程模型

Fig.7 Structural equation model of N and water addition effects on the plant-soil-microbe system

图中箭头上的数字为标准化路径系数,绿色箭头表示正向影响,红色箭头表示负向影响,实线表示影响显著,虚线表示影响不显著,箭头越粗表示影响越大

和水分交互作用影响土壤真菌群落。Zhang 等^[35]在草地中和 Wang 等^[31]在森林中的研究均表明氮素和水分对土壤微生物群落的变化存在互作效应。这可能是因为水分添加导致土壤中溶解态的硝态氮含量增加,进一步降低了土壤 pH^[19]并影响地上植物群落,进而改变了土壤真菌群落结构。Ochoa-Hueso 等研究发现氮沉降和降雨变化改变了土壤肥力和功能,如土壤碳氮存储能力、净氮矿化和土壤酶活性^[15]。Li 等在内蒙草地的研究也表明菌根真菌群落对水分可利用性的响应强于对氮添加的响应^[36]。结构方程模型的分析结果表明,氮素和水分同时添加条件下,植物群落组成及丰富度的变化仍然是影响真菌群落结构的主要因素,土壤无机氮和 pH 的变化仍然主要通过改变植物群落进而影响真菌群落结构。而土壤含水量对真菌群落的直接影响则大于间接影响,且其影响超过了无机氮含量变化的影响。这说明在多个气候变化因子的交互作用下,土壤真菌群落可能发生不同于我们预期的变化。因此在未来的研究中,探讨多个气候变化因子对生态系统的互作效应更为重要。

3.3 氮素和水分添加条件下土壤真菌群落变化的指示种

LEfSe 分析以不同真菌门类的相对丰度为数据基础,可以找出不同氮素和水分添加条件下有显著差异的门类,即可指示不同处理间显著差异的变化指示种。在 LDA 得分值 4.5 的极显著差异水平下,接合菌门的 *Mortierella* 属,担子菌门的 Entolomataceae 科和 *Geastrum* 属相对丰度变化显著,且从图 5 中圆圈直径可看出他们在群落中的相对丰度较高。这说明在不同的氮素和水分输入水平下,*Mortierella* 属、Entolomataceae 科和 *Geastrum* 属可作为土壤真菌群落结构变化的指示种。有研究表明 *Mortierella* 属可降解几丁质,某些种可将半纤维素降解为糖类^[37]。在本研究中,*Mortierella* 属相对丰度在 N011 处理时最高,氮添加后其相对丰度降低,这与之前研究结果类似,Freedman 等研究表明长期氮添加可能会降低有分解功能的微生物对凋落物分解的贡献^[38]。此外,真菌中有很多种类属于致病菌,其相对丰度的变化关系到整个生态系统的健康。因此,未来研究多个气候变化因子的交互作用,对生态系统健康及可持续性至关重要。

4 结论

单一氮添加或氮素和水分同时添加均改变了土壤真菌群落结构。与常规降雨相比,水分添加使土壤真菌门类相对丰度呈现出不同的变化趋势。在不同氮素和水分添加条件下,有 5 个土壤真菌门 11 个真菌纲相对丰度变化显著。*Mortierella* 属、Entolomataceae 科和 *Geastrum* 属可作为土壤真菌群落结构变化的指示种。植物群落组成及植物物种丰富度的变化是土壤真菌群落结构发生变化的主要影响因素,土壤无机氮及 pH 的变化主要通过影响植物群落间接影响真菌群落,其对真菌群落的直接影响则较小。氮沉降和降雨变化是一个长期渐进的过程,其对草地生态系统的累积影响还需在多时间点、多地点及多个生态系统中进行长期监测研究。

参考文献 (References):

- [1] Liu X J, Zhang Y, Han W X, Tang A H, Shen J L, Cui Z L, Vitousek P, Erisman J W, Goulding K, Christie P, Fangmeier A, Zhang F S. Enhanced nitrogen deposition over China. *Nature*, 2013, 494 (7438): 459-462.
- [2] Klauauf S, Inselsbacher E, Zechmeister-Boltenstern S, Wanek W, Gottsberger R, Strauss J, Gorfer M. Molecular diversity of fungal communities in agricultural soils from Lower Austria. *Fungal Diversity*, 2010, 44(1): 65-75.
- [3] 何玉梅, 张仁陟, 张丽华, 解开治. 不同耕作措施对土壤真菌群落结构与生态特征的影响. *生态学报*, 2007, 27(1): 113-119.
- [4] 刘星, 张文明, 张春红, 邱慧珍, 李瑞琴, 王蒂, 沈其荣. 土壤灭菌-生物有机肥联用对连作马铃薯及土壤真菌群落结构的影响. *生态学报*, 2016, 36(20): 6365-6378.
- [5] 李永春, 梁雪, 李永夫, 王祈, 陈俊辉, 徐秋芳. 毛竹入侵阔叶林对土壤真菌群落的影响. *应用生态学报*, 2016, 27(2): 585-592.
- [6] 王楠楠, 杨雪, 李世兰, 隋心, 韩士杰, 冯富娟. 降水变化驱动下红松阔叶林土壤真菌多样性的分布格局. *应用生态学报*, 2013, 24(7): 1985-1990.
- [7] Kaisermann A, Maron P A, Beaumelle L, Lata J C. Fungal communities are more sensitive indicators to non-extreme soil moisture variations than bacterial communities. *Applied Soil Ecology*, 2015, 86: 158-164.
- [8] Turner M M, Henry H A L. Interactive effects of warming and increased nitrogen deposition on ¹⁵N tracer retention in a temperate old field: seasonal trends. *Global Change Biology*, 2009, 15(12): 2885-2893.
- [9] Wei C Z, Yu Q, Bai E, Lü X T, Li Q, Xia J Y, Kardol P, Liang W J, Wang Z W, Han X G. Nitrogen deposition weakens plant-microbe interactions in grassland ecosystems. *Global Change Biology*, 2013, 19(12): 3688-3697.
- [10] Contosta A R, Frey S D, Cooper A B. Soil microbial communities vary as much over time as with chronic warming and nitrogen additions. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 88: 19-24.
- [11] Mueller R C, Balasch M M, Kuske C R. Contrasting soil fungal community responses to experimental nitrogen addition using the large subunit rRNA taxonomic marker and cellobiohydrolase I functional marker. *Molecular Ecology*, 2014, 23(17): 4406-4417.
- [12] Leff J W, Jones S E, Prober S M, Barberán A, Borer E T, Firn J L, Harpole W S, Hobbie S E, Hofmockel K S, Knops J M H, McCulley R L, La Pierre K, Risch A C, Seabloom E W, Schütz M, Steenbock C, Stevens C J, Fierer N. Consistent responses of soil microbial communities to elevated nutrient inputs in grasslands across the globe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(35): 10967-10972.
- [13] Paungfoo-Lonhienne C, Yeoh Y K, Kasinadhuni N R P, Lonhienne T G A, Robinson N, Hugenholtz P, Ragan M A, Schmidt S. Nitrogen fertilizer dose alters fungal communities in sugarcane soil and rhizosphere. *Scientific Reports*, 2015, 5: 8678.
- [14] Sorensen P O, Germino M J, Feris K P. Microbial community responses to 17 years of altered precipitation are seasonally dependent and coupled to

- co-varying effects of water content on vegetation and soil C. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 64: 155-163.
- [15] Ochoa-Hueso R, Bell M D, Manrique E. Impacts of increased nitrogen deposition and altered precipitation regimes on soil fertility and functioning in semiarid Mediterranean shrublands. *Journal of Arid Environments*, 2014, 104: 106-115.
- [16] Brockett B F T, Prescott C E, Grayston S J. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 44(1): 9-20.
- [17] Zhang N L, Wan S Q, Guo J X, Han G D, Gutknecht J, Schmid B, Yu L, Liu W X, Bi J, Wang Z, Ma K P. Precipitation modifies the effects of warming and nitrogen addition on soil microbial communities in northern Chinese grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 89: 12-23.
- [18] Eisenhauer N, Cesarz S, Koller R, Worm K, Reich P B. Global change belowground: impacts of elevated CO₂, nitrogen, and summer drought on soil food webs and biodiversity. *Global Change Biology*, 2012, 18(2): 435-447.
- [19] 王杰, 李刚, 修伟明, 宋晓龙, 赵建宁, 杨殿林. 氮素和水分对贝加尔针茅草原土壤酶活性和微生物量碳氮的影响. *农业资源与环境学报*, 2014, 31(3): 237-245.
- [20] Mackelprang R, Waldrop M P, DeAngelis K M, David M M, Chavarria K L, Blazewicz S J, Rubin E M, Jansson J K. Metagenomic analysis of a permafrost microbial community reveals a rapid response to thaw. *Nature*, 2011, 480(7377): 368-371.
- [21] Bellemain E, Carlsen T, Brochmann C, Coissac E, Taberlet P, Kausserud H. ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an *in silico* approach reveals potential PCR biases. *BMC Microbiology*, 2010, 10(1): 189-189.
- [22] Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett W S, Huttenhower C. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology*, 2011, 12: R60-R60.
- [23] Stevens C J, Dise N B, Mountford J O, Gowing D J. Impact of nitrogen deposition on the species richness of grasslands. *Science*, 2004, 303(5665): 1876-1879.
- [24] Roth T, Kohli L, Rihm B, Achermann B. Nitrogen deposition is negatively related to species richness and species composition of vascular plants and bryophytes in Swiss mountain grassland. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2013, 178: 121-126.
- [25] Ma A Z, Zhuang X L, Wu J M, Cui M M, Lv D, Liu C Z, Zhuang G Q. Ascomycota members dominate fungal communities during straw residue decomposition in arable soil. *PLoS One*, 2013, 8(6): e661466.
- [26] Zhou J, Jiang X, Zhou B K, Zhao B S, Ma M C, Guan D W, Li J, Chen S F, Cao F M, Shen D L, Qin J. Thirty four years of nitrogen fertilization decreases fungal diversity and alters fungal community composition in black soil in northeast China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 95: 135-143.
- [27] 毕明丽, 宇万太, 姜子绍, 周桦, 沈善敏. 施肥和土壤管理对土壤微生物生物量碳、氮和群落结构的影响. *生态学报*, 2010, 30(1): 32-42.
- [28] Elser J J, Andersen T, Baron J S, Bergström A K, Jansson M, Kyle M, Nydick K R, Steger L, Hessen D O. Shifts in lake N: P stoichiometry and nutrient limitation driven by atmospheric nitrogen deposition. *Science*, 2009, 326(5954): 835-837.
- [29] Chen D M, Lan Z C, Hu S J, Bai Y F. Effects of nitrogen enrichment on belowground communities in grassland: Relative role of soil nitrogen availability vs. soil acidification. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 89: 99-108.
- [30] Cassman N A, Leite M F A, Pan Y, De Hollander M, van Veen J A, Kuramae E E. Plant and soil fungal but not soil bacterial communities are linked in long-term fertilized grassland. *Scientific Reports*, 2016, 6: 23680.
- [31] Wang M, Shi S, Lin F, Jiang P. Response of the soil fungal community to multi-factor environmental changes in a temperate forest. *Applied Soil Ecology*, 2014, 81: 45-56.
- [32] Högborg M N, Yarwood S A, Myrold D D. Fungal but not bacterial soil communities recover after termination of decadal nitrogen additions to boreal forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 72: 35-43.
- [33] McGuire K L, Fierer N, Bateman C, Treseder K K, Turner B L. Fungal community composition in neotropical rain forests: the influence of tree diversity and precipitation. *Microbial Ecology*, 2012, 63(4): 804-812.
- [34] Curlevski N J A, Drigo B, Cairney J W G, Anderson I C. Influence of elevated atmospheric CO₂ and water availability on soil fungal communities under *Eucalyptus saligna*. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70: 263-271.
- [35] Zhang X M, Wei H W, Chen Q S, Han X G. The counteractive effects of nitrogen addition and watering on soil bacterial communities in a steppe ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 72: 26-34.
- [36] Li X L, Zhu T Y, Peng F, Chen Q, Lin S, Christie P, Zhang J L. Inner Mongolian steppe arbuscular mycorrhizal fungal communities respond more strongly to water availability than to nitrogen fertilization. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(8): 3051-3068.
- [37] Dix N J, Webster J. *Fungal Ecology*. London: Chapman & Hall, 1995.
- [38] Freedman Z B, Romanowicz K J, Upchurch R A, Zak D R. Differential responses of total and active soil microbial communities to long-term experimental N deposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 90: 275-282.