

DOI: 10.5846/stxb201710151847

季凌飞,倪康,马立锋,陈兆杰,赵远艳,阮建云,郭世伟.不同施肥方式对酸性茶园土壤真菌群落的影响.生态学报,2018,38(22): - .

Ji L F, Ni K, Ma L F, Chen Z J, Zhao Y Y, Ruan J Y, Guo S W. Effect of different fertilizer regimes on the fungal community of acidic tea-garden soil. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(22): - .

不同施肥方式对酸性茶园土壤真菌群落的影响

季凌飞^{1,2}, 倪康², 马立锋², 陈兆杰¹, 赵远艳³, 阮建云², 郭世伟^{1,*}

1 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095

2 中国农业科学院茶叶研究所, 杭州 310008

3 云南省普洱茶树良种场, 普洱 665000

摘要:为揭示不同施肥方式对茶园土壤真菌群落结构的影响,依托定位施肥试验,采集对照(CK)、纯化肥(N300)、有机肥配施(OM30)3个处理的0—10 cm和10—20 cm两层土壤,通过高通量测序技术,分析不同施肥处理下,茶园土壤真菌群落结构特征及其与土壤理化性质的关系。结果表明0—10 cm土层中真菌Alpha多样性显著高于10—20 cm土层($P < 0.05$);在同一土层中,Alpha多样性变化趋势为CK > N300 > OM30。子囊菌门、担子菌门、接合菌门是试验茶园土壤中三大优势真菌门类, *Sordariomycetes* 纲, *Tremellomycetes* 纲和 *Mortierellomycotina* 纲分别是子囊菌门、担子菌门和接合菌门下的优势种群。子囊菌门和担子菌门在0—10 cm土层中相对丰度较高,而接合菌门则在10—20 cm土层中具有较高丰度($P < 0.05$)。施肥处理提高了土壤中接合菌门的相对丰度,降低了子囊菌门的相对丰度。不同深度土壤中真菌群落结构差异主要受土壤理化性质变化驱动,冗余分析和Monte Carlo置换检验结果显示,土壤有机碳、全氮、碳氮比、全钾、速效钾含量对土壤真菌群落结构影响显著($P < 0.05$),而试验茶园土壤的pH变化对同一土层中真菌群落结构的影响并不显著($P > 0.05$)。

关键词:茶园土壤;长期施肥;真菌多样性;群落结构

Effect of different fertilizer regimes on the fungal community of acidic tea-garden soil

Ji Lingfei^{1,2}, Ni Kang², Ma Lifeng², Chen Zhaojie¹, Zhao Yuanyan³, Ruan Jianyun², Guo Shiwei^{1,*}

1 College of Resource and Environment Science, Nanjing Agriculture University, Nanjing 210095, China

2 Tea Research Institute of Chinese Agriculture Academic Science, Hangzhou 310008, China

3 Pu'er Tea Thoroughbred Farm, Puer 665000, China

Abstract: Fertilization plays important roles in sustaining crop yield and quality, and soil microbial community and composition. However, little is known about the soil fungal communities in tea plantation soils, even though tea plantations constitute significant land use in South China. The diversity and distribution of soil fungal communities are significantly influenced by soil physical-chemical properties and field management. Therefore, this study sampled the surface layer (0—10 cm) and the sub-surface layer (10—20 cm) soils from a tea plantation in the Puer area, Yunnan Province, China. The experiment consisted of three different treatments. These were no N application (CK), chemical N fertilization with 300 kg/hm² N (N300), and combined inorganic and organic fertilization (30% N in organic form, OM30). Soil DNA was extracted from the soils for PCR amplification and high throughput sequencing in order to study the effects of organic and inorganic fertilization on the fungal communities of the tea garden soil. The results showed that the surface layer (0—10 cm)

基金项目:国家重点研发计划项目(2016YFD0200900);国家茶叶产业技术体系(CARS 19);中国农业科技创新工程项目(CAAS-ASTIP-2017-TRI-CAAS)

收稿日期:2017-10-15; 网络出版日期:2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: sguo@njau.edu.cn

α -diversity of the fungal community, the Chao1 richness index, and the Shannon diversity index values were significantly higher than those recorded for the sub-surface layer (10—20 cm) ($P < 0.05$). Within the same layer, the α -diversity tendency was CK > N300 > OM30. Relative abundance at the phylum level showed that *Ascomycota*, *Basidiomycota*, and *Zygomycota* were the three dominant phyla in the experimental soil and *Sordariomycetes*, *Tremellomycetes*, and *Mortierellomycotina* were the three dominant *Ascomycota*, *Basidiomycota*, and *Zygomycota* classes, respectively. The relative abundances of *Ascomycota* and *Basidiomycota* were higher in the surface layer, whereas *Zygomycota* were relatively more abundant in the sub-surface layer ($P < 0.05$). The N300 and OM30 treatments increased the relative abundance of *Zygomycota*, but decreased the relative abundance of *Ascomycota* within the same layer. Redundancy analysis (RDA) showed that the compositions of the soil fungal communities in the two different layers were driven by several soil physical-chemical proprieties. The Monte Carlo permutation test showed that the carbon:nitrogen ratio and the soil organic carbon, total nitrogen, total potassium, and available potassium content can significantly influence the composition of the fungal community. However, soil pH, which is an important environmental factor, did not have any significant effect on the soil fungal community in this experiment.

Key Words: tea plantation soils; long-term fertilization; fungal diversity; community structure

土壤微生物是土壤生态功能的重要提供者,在土壤有机质周转、土壤养分转化、土壤团聚体形成、重金属及有机污染物降解、温室气体排放等物质循环和能量转化过程中发挥着重要作用^[1-3]。同时土壤微生物群落结构与数量也会随着植被种类,土壤肥力,土壤 pH,降水等环境因子的改变而发生相应的变化^[4-5]。因此,调控土壤中微生物数量与群落结构对增加土壤中养分有效性,改善土壤肥力,提高土壤生产力具有重要意义。

茶树是我国重要的经济作物之一,具有喜酸富铝的特性。自然土壤植茶后,在茶树自身物质循环以及茶园管理等因素作用下,土壤理化性质会发生一系列变化。例如土壤 pH 值下降,土壤中 Al、F 等元素含量增加,而 Ca、Mg 等盐基离子和微量元素变得相对缺乏^[6]。与其它农作物相比,茶树是多年生木本植物,且需要周期性修剪以改造树冠^[7]。由于茶树枝叶富含铝和茶多酚,此类物质随着修剪枝叶还田,并不断在表层土壤富集,分解,显著改变了茶园土壤的结构和性质,可能会使茶园土壤微生物群落结构有别于其他农业或森林土壤^[8-9]。

目前,茶园土壤细菌群落与功能多样性已有相关报道^[7,10]。但针对茶园土壤真菌群落多样性的研究却鲜有报道,仅有袁赛艳等人通过室内培养实验调查了茶树修剪物对茶园土壤真菌群落多样性的研究^[11]。而关于不同施肥方式对茶园土壤真菌群落结构的影响却没有报道。真菌是土壤微生物群落的重要组成部分,在土壤有机质转化过程中起着重要作用^[12-14],研究表明土壤真菌群落结构和真菌的多样性与土壤碳固定过程密切相关^[15]。土壤养分状况的改变,地上部植物生物量变化以及植物的生理活动也会影响土壤的真菌群落结构^[16]。施肥是维持茶叶产量与品质的重要措施,同时也是影响土壤肥力与养分状况的重要因素,研究不同施肥方式对茶园土壤真菌群落结构和多样性的作用,探讨施肥对茶园土壤真菌群落的影响,可以为施肥调控茶园土壤真菌群落提供一定的理论依据。

1 材料方法

1.1 试验地概况

试验地位于云南省普洱市普洱茶树良种场(101°05'E,22°44'N),海拔 1650 m,坡度约 25 度。属于亚热带季风气候,年均气温 15—20.3℃,无霜期在 315 d 以上,降雨量 1100—2780 mm。茶树品种为“云抗 10 号”,植茶年限 17 年。试验未开始时,表层土壤(0—20 cm)pH 为 4.24,有机质含量为 34.80 g/kg,全氮含量 2.70 g/kg,有效磷含量 49.88 mg/kg,速效钾含量 97.70 mg/kg。

1.2 试验设计

试验始于 2011 年,包含 3 个处理:对照(CK),不施氮肥;纯施化肥氮(N300),氮用量为 300 kg/hm² 纯氮;70%化肥配施 30%有机肥(OM30),氮用量为 300 kg/hm² 纯氮。每个处理设 4 个重复。每个小区宽 6 m,长 10 m。氮肥按照 1 次基肥,3 次追肥施用,其中 30%氮肥用量施用于 11 月(基肥),其余氮肥分别作为追肥,分别施用于 2 月、5 月、8 月,每次追施量为全年氮肥用量 20%。

本试验中氮肥为尿素,有机肥为菜籽饼。所有处理的磷、钾、镁养分投入量一致,其中磷肥用量为(P₂O₅) 70 kg/hm²,钾肥用量为(K₂O) 150 kg/hm²,镁肥用(MgO) 40 kg/hm²。所用磷、钾和镁肥均为化肥,其中磷肥为过磷酸钙,钾肥为硫酸钾,镁肥为硫酸镁。施肥均采用人工开沟条施肥,施肥沟位于茶行中间,深度约 15 cm。

1.3 样品采集与分析

土壤样品采集于 2016 年 9 月,在每个小区内距施肥沟 10 cm 处。去除土表的凋落物后,分别垂直钻取 0—10 cm 和 10—20 cm 的土壤。每个小区各取 15 个点,将土壤样品去除石块、根系、植物残体等杂质后混匀,分成两份。一份置于-80℃冰箱保存,用于提取土壤 DNA,将另一份土壤风干,用于土壤的养分测定。

土壤 pH 值测定:称 10 g 风干土样于 50 mL 离心管中,加入去 CO₂蒸馏水 25 mL,混合、震荡,静置 30 min,用 pH 计(ORION3STAR, Thermo, 美国)测定。

土壤全氮(TN)和全碳(TC)测定:称取 1 g 过 100 目的风干土,采用碳氮自动分析仪(ElementarVarioMaxCN, Elementar, 德国)测定。

速效磷(AP)、速效钾(AK)测定:称取 2.5 g 过 20 目的风干土,采用 Mehlich3 浸提法,土水比 1:10 浸提,将滤液稀释 5 倍后用 ICP-AES(Thermo, TJA, 美国)测定。

土壤全磷测定:采用浓硫酸-高氯酸消煮法,称取过 100 目筛的风干土壤 1 g,加入 8 mL 浓硫酸,再加入 10 滴高氯酸消煮^[17],消煮结束后将消煮液定容至 50 mL,取定容后的消煮液用 ICP-AES 测定全磷含量;

土壤全钾测定:采用氢氟酸-高氯酸消煮法,称取过 100 目筛的风干土壤 1 g,加入 8 mL 氢氟酸,再加入 10 滴高氯酸消煮,将消煮液定容至 50 mL,取定容后的消煮液用 ICP-AES 测定土壤全钾含量^[18]。

土壤 DNA 按照 PowerSoilkit(MOBIOLaboratories, Carlsbad, CA, USA)试剂盒的方法提取,随后对样本进行 ITS2 检测区域的扩增,引物序列如下:PrimerF = Illuminaadaptersequence1 + GCATCGATGAAGAACGCAGC; PrimerR = Illuminaadaptersequence2 + TCCTCCGCTTATTGATATGC。扩增完毕后建立样本原始文库,采用 Miseq 平台,2×250 bp 的双端测序策略对文库进行测序。

1.4 数据分析

测序数据下机后,序列使用 QIIME 1.7.0-devpipeline (<http://www.qiime.org>)进行质控和去嵌合体。OTU (Operational Taxonomic Units)是在系统发生学或群体遗传学研究中,为了便于进行分析,人为给某一个分类单元(品系,属,种分组等)设置的同一标志。将经过质控后的序列按序列间 97%的相似性归并到一个 OTU 单元格中,以备后续 OTU 分类注释。指控之后共获得 4373014 (143931±47440 各处理中的平均序列数)条序列,将获得的序列按样本中最小序列数 70212 抽平。之后 OTU 的代表序列与 SILVA 数据进行比对,获得每条 OTU 代表序列在界、门、纲、目、科、属、种分类水平上的分组。

处理与土层间的差异采用方差分析(two-way ANOVA),并用 LSD 方法进行多重比较,显著性水平设定为 $\alpha < 0.05$ 。

Alpha 多样性指数主要有 Observed 指数、Chao1 指数和 Shannon 指数,其中 Observed 指数表示观测到的 OTU 数,Chao1 指数表示物种的丰富度指数^[19],Shannon 指数是用来估算样品中微生物的多样性指数之一^[20]。Shannon 值越大,说明群落多样性越高。Coverage 表示测序深度指数。

不同处理之间的 Alpha 指数差异采用单因素方差分析(one-way ANOVA),并用 LSD 方法进行多重比较,显著性水平设定为 $\alpha < 0.05$ 。

土壤真菌群落结构与土壤理化性质之间的关系采用冗余分析(RDA)方法确定,并采用 Monte Carlo 置换检验计算因子的重要性,其中置换次数设为 999 次,显著性水平为 $P < 0.01$ [21]。

上述统计分析均由 R 统计平台实现(R 版本 3.1.2)。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质

与试验开始前原始土样相比,0—10 cm 土层中各个处理的速效钾含量提高了 3.34—3.53 倍,10—20 cm 土层中各处理相较原始土样速效钾含量提高了 2.56—2.76 倍,不同处理各个土层中土壤有机碳的含量相较原始土样也有所下降(表 1)。在 0—10 cm 土层中,纯化肥(N300)处理和有机肥配施(OM30)处理较对照(CK)处理速效磷和速效钾的平均含量有所提高,其中速效磷提高了 12.36—17.32 mg/kg,速效钾提高了 7.92—15.75 mg/kg,但无显著差异($P > 0.05$)。其它理化因子的变化较小,方差分析也表明,在 0—10 cm 和 10—20 cm 土层中,处理间的差异均不显著($P > 0.05$)。但两土层之间比较发现,除全钾和碳氮比外,0—10 cm 土层中的养分含量、pH 均显著高于 10—20 cm 土层($P < 0.05$),其中 0—10 cm 土层中速效磷的含量是 10—20 cm 土层的 5.64—8.27 倍。

表 1 不同处理及土层之间土壤理化性质

Table 1 Soil physical and chemical properties between different treatments and different layers

因子 Factors	0—10 cm			10—20 cm			P		
	CK	N300	OM30	CK	N300	OM30	处理 Treatment	土层 Layer	处理×土层 Treatment * Layer
速效磷 Available phosphorus/(mg/kg)	71.30±7.25	83.66±28.17	88.62±16.96	12.64±3.75	13.00±4.52	10.72±4.23	0.84	0.000	0.79
速效钾 Available potassium/(mg/kg)	326.48±8.48	342.23±19.98	334.40±17.69	249.63±9.85	254.22±17.41	269.83±12.71	0.63	0.000	0.74
含水量 Moisture/%	43±1.43	40±3.99	41±0.29	36±1.04	36±4.27	37±3.57	0.65	0.000	0.57
全磷 Total phosphorus/(g/kg)	0.71±0.071	0.75±0.055	0.68±0.0058	0.35±0.049	0.29±0.023	0.28±0.031	0.51	0.000	0.48
全钾 Total potassium/(g/kg)	9.37±1.05	9.77±1.72	8.64±0.67	9.97±1.22	10.77±0.88	10.61±1.14	0.83	0.223	0.83
全碳 Total carbon/(g/kg)	30.09±2.81	30.10±2.26	30.50±1.87	18.98±2.76	18.10±1.66	18.41±2.66	0.98	0.000	0.97
全氮 Total nitrogen/(g/kg)	2.61±0.16	2.66±0.12	2.61±0.10	1.65±0.17	1.65±0.10	1.68±0.18	0.98	0.000	0.97
碳氮比 C/N ratio	11.48±0.37	11.28±0.40	11.65±0.29	11.38±0.53	10.90±0.49	10.87±0.65	0.77	0.284	0.78
pH(H ₂ O)	4.56±0.09	4.65±0.05	4.46±0.09	4.28±0.06	4.36±0.06	4.27±0.09	0.22	0.001	0.76

CK:对照,不施氮肥,no N fertilizer;N300:氮肥用量为 300 kg/hm² N,chemical N fertilization with 300 kg/hm² N;OM30:70%化肥配施 30%有机肥,氮肥用量为 300 kg/hm² N,combined 30% organic N fertilizer and 70% inorganic N fertilizer;表中理化数值为平均值±标准误,P 值<0.05 表示差异显著

2.2 土壤真菌群落 Alpha 多样性

土壤的 Alpha 多样性可以用来表征群落内部的物种多样性。由表 2 可知,Coverage 值在所有的处理中均大于 0.995,表明在该测序深度下,大多数的真菌群落已经被覆盖。在 0—10 cm 土层中 Observed,Chao1 和 Shannon 指数的范围分别在 1082—1423,1136—1676 和 4.02—4.64 内,在 10—20 cm 土层中则在 472—1145,518—1272 和 3.45—4.01 范围之内,相同处理中 0—10 cm 土层的多样性指数值均显著高于 10—20 cm 土层($P < 0.05$)。

在同层土壤中,多样性指数的结果均呈 CK > N300 > OM30。在 0—10 cm 土层中,N300 与 CK 处理相比,Observed 和 Chao1 指数均值分别降低了 157 和 219,但二者之间没有显著差异($P > 0.05$);而 OM30 与 CK 处理相比,Observed 和 Chao1 指数均值则降低了 269 和 395,且差异显著($P < 0.05$)。在 10—20 cm 土层中,N300 与 OM30 的 Observed 指数比 CK 分别降低了 195 和 342,Chao1 指数分别降低了 208 和 377,N300 和 OM 较 CK 处理 Observed 指数显著降低,Chao1 指数虽然降低,但 N300 与 CK 处理无显著差,OM30 与 CK 处理相比差异显著($P < 0.05$)。

表 2 土壤真菌 Alpha 多样性指数
Table 2 Alpha diversity index of soil fungal

处理 Treatment	观测值 Observed	Chao1 指数 Chao1	香农指数 Shannon	覆盖率 Coverage
0—10 cm				
CK	1377±46a	1598±78a	4.40±0.24a	0.996±0.001c
N300	1220±169ab	1379±228ab	4.31±0.22a	0.997±0.001bc
OM30	1108±26bc	1208±72bc	4.22±0.20a	0.998±0.001ab
10—20 cm				
CK	988±147c	1088±184cd	3.91±0.10b	0.998±0.001ab
N300	793±110d	880±127de	3.70±0.21b	0.998±0.001a
OM30	646±174d	711±193f	3.63±0.18b	0.999±0.001a

不同字母表示统计上有显著差异, P 值 <0.05

2.3 土壤真菌群落结构

茶园土壤真菌群落中的优势门类为子囊菌门 (*Ascomycota*)、接合菌门 (*Zygomycota*) 和担子菌门 (*Basidiomycota*),三者相对丰度总和达 90%以上(图 1)。不同土层间土壤样品中的真菌群落组成差异显著,其中子囊菌门在 3 个处理中均表现为 0—10 cm 土层相对丰度显著高于 10—20 cm 土层($P<0.05$),而接合菌门在 10—20 cm 土层的相对丰度显著大于 0—10 cm 土层($P<0.05$)。担子菌门仅在 OM30 处理中,表现出 0—10 cm 土层丰度显著高于 10—20 cm 土层。亚壶菌门 (*Chytridiomycota*)、球囊菌门 (*Glomeromycota*) 等其他真菌在土层间无显著差异($P>0.05$)。

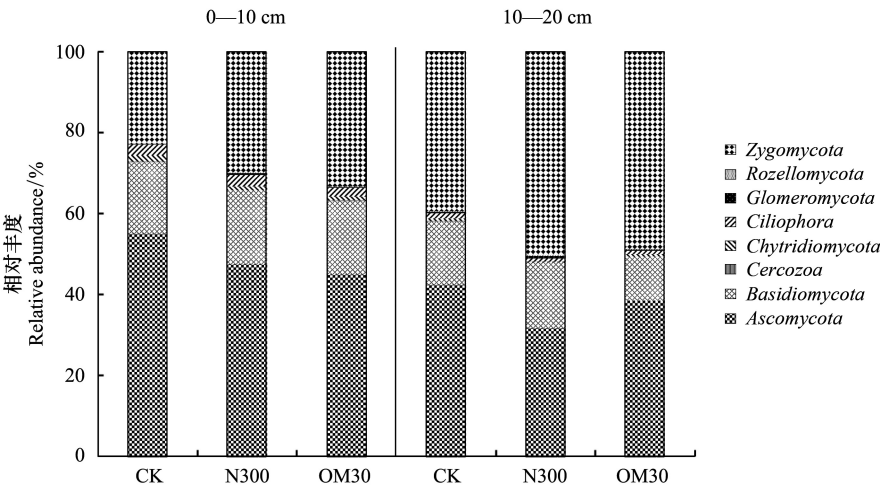


图 1 真菌门水平相对丰度图
Fig.1 Relative abundance at phylum level

CK:表示对照,不施氮肥,no N fertilizer;N300:表示氮肥用量为 300 kg/hm² N,chemical N fertilization with 300 kg/hm² N;OM30:表示 70%化肥配施 30%有机肥,氮肥用量为 300 kg/hm² N,combined 30% organic N fertilizer and 70% inorganic N fertilizer

子囊菌门微生物主要是由 *Sordariomycetes* 纲、*Leotiomycetes* 纲、*Dothideomycetes* 纲和 *Eurotiomycetes* 纲四个纲构成。其中 *Sordariomycetes* 纲相对丰度最高(17.62%—23.21%),是优势纲且在不同处理间差异显著($P<0.05$)(表 3)。0—10 cm 土层中,*Sordariomycetes* 纲真菌的相对丰度在 N300(19.67%)和 OM30 处理(17.62%)中较 CK 处理分别降低了 3.54%和 5.59%;在 10—20 cm 土层中,CK 处理中 *Sordariomycetes* 纲相对丰度最高(18.92%),而在 N300 和 OM30 处理中,*Sordariomycetes* 纲相对丰度下降到 11.93%和 10.61%。

担子菌门微生物由 *Agaricomycetes* 纲、*Microbotryomycetes* 纲和 *Tremellomycetes* 纲构成,其中 *Tremellomycetes* 纲为优势纲,其相对丰度是 *Agaricomycetes* 纲的 3.21—5.55 倍,是 *Microbotryomycetes* 纲的 8.47—21.45 倍。

接合菌门的微生物主要由 *Mortierellomycotina* 纲和 *Mucoromycotina* 纲构成,其中 *Mortierellomycotina* 纲是优势种群,其相对丰度是 *Mucoromycotina* 纲的 10.73—16.96 倍,(表 3)。在同一土层中,施肥处理显著增加了 *Mortierellomycotina* 纲的相对丰度,在 0—10 cm 土层中,N300 和 OM30 处理较 CK 处理分别增加了 6.20% 和 10.20%;在 10—20 cm 土层中 N300 和 OM30 处理较 CK 处理分别增加了 10.20% 和 9.87%。

表 3 真菌纲水平相对丰度/%
Table 3 Relative abundance of soil fungal at class level

门 Phylum	纲 Class	处理 Treatment					
		0—10 cm			10—20 cm		
		CK	N300	OM30	CK	N300	OM30
子囊菌 Ascomycota	<i>Sordariomycetes</i>	23.21a	19.67b	17.62b	18.92a	11.93b	10.61b
	<i>Leotiomycetes</i>	9.11a	8.28a	6.31a	4.55a	6.12a	7.34a
	<i>Dothideomycetes</i>	7.13a	7.33a	6.91a	7.28a	5.74a	9.68a
	<i>Eurotiomycetes</i>	3.22a	3.20a	3.07a	2.83a	1.82a	1.84a
担子菌 Basidiomycota	<i>Agaricomycetes</i>	1.68a	1.65a	1.57a	1.51a	1.84a	0.78a
	<i>Microbotryomycetes</i>	0.74a	0.49a	0.77a	0.36a	0.27a	0.20a
	<i>Tremellomycetes</i>	6.27a	6.86a	6.63a	5.87a	5.90a	4.29a
接合菌 Zygomycota	<i>Mortierellomycotina</i>	21.00c	27.20ab	31.20a	35.85b	46.05a	45.72a
	<i>Mucoromycotina</i>	1.62a	2.41a	1.84a	3.34a	4.08a	2.93a

不同英文字母表示处理之间有显著差异, $P<0.05$

2.4 土壤养分对真菌群落的影响

RDA 分析结果显示,在两个深度土层中,各处理的真菌群落结构之间差异并不明显。在 0—10 cm 土层中,真菌群落差异在两个排序轴上的解释率分别是 18.85% 和 14.77% (图 2a)。在 10—20 cm 土层中,RDA1 和 RDA2 两个排序轴对样本间真菌群落差异的解释率分别是 17.79% 和 12.41% (图 2b)。置换检验的结果显示,在不同土层中,土壤总有机碳 (TC),总氮 (TN),碳氮比 (C:N) 以及总钾含量 (TK),均为主导真菌群落变化的主要因子 (表 4)。此外,在 10—20 cm 土层中,土壤速效钾含量 (AK) 对真菌群落的变化具有重要影响 ($R^2=0.69$, $P=0.008$)。

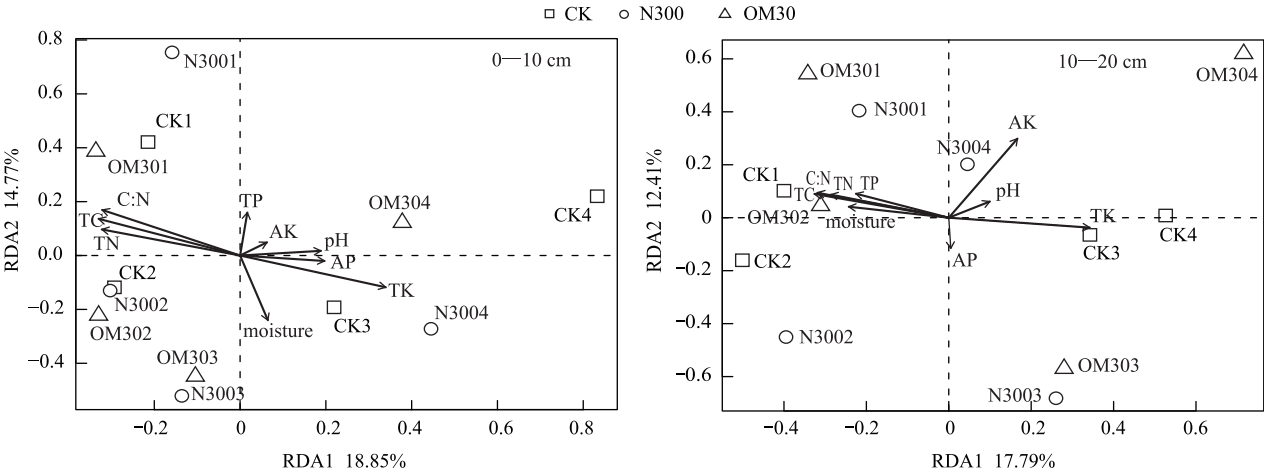


图 2 冗余分析

Fig.2 Redundancy Analysis (RDA)

a,b 分别表示 0—10 cm 土层和 10—20 cm 土层的冗余分析;AP:速效磷,Available phosphorus;AK:速效钾,Available potassium;Moisture:含水量;TC:总碳,Total carbon;TN:总氮,Total nitrogen;C:N:碳氮比,Ratio between total carbon and total nitrogen;TP:全磷,Total phosphorus;TK:全钾,Total potassium

表 4 冗余分析 Monte Carlo 置换检验结果

Table 4 Results of Monte Carlo permutation test

Factors	0—10 cm		10—20 cm		Factors	0—10 cm		10—20 cm	
	R^2	P	R^2	P		R^2	P	R^2	P
AP	0.24	0.290	0.08	0.688	TN	0.70	0.002 **	0.55	0.037 *
AK	0.04	0.845	0.69	0.008 **	C:N	0.81	0.002 **	0.67	0.008 **
moisture	0.38	0.104	0.37	0.114	TP	0.16	0.458	0.36	0.125
pH	0.22	0.331	0.08	0.677	TK	0.80	0.001 ***	0.72	0.006 **
TC	0.79	0.001 ***	0.70	0.007 **					

AP:速效磷, Available phosphorus; AK:速效钾, Available potassium; Moisture:含水量; TC:总碳, Total carbon; TN:总氮, Total nitrogen; C:N:碳氮比, Ratio between total carbon and total nitrogen; TP:全磷, Total phosphorus; TK:全钾, Total potassium; P 值通过 999 次置换计算得出, 显著性标记为 * $P<0.05$; * * $P<0.01$; * * * $P<0.001$

3 讨论

3.1 有机无机配施对土壤理化性质的影响

在福建茶区的定位施肥试验研究发现有机无机肥配施能显著增加土壤中养分元素含量, 稳定土壤 pH, 减缓茶园土壤酸化, 改良茶园土壤质量^[22]。而在本研究中, 与 CK 处理相比, 纯化肥处理 (N300) 增加了全氮含量, 有机无机配施处理 (OM30) 增加了土壤有机碳, 但并未达到显著水平 ($P>0.05$)。这可能与试验地块的地形有关, 由于试验地区雨热同期, 雨季降水量较大, 土壤含水量长期处于饱和水平。根据王云等人的研究, 在坡地上, 短时间的强降雨极易产生地表径流, 在土壤水分饱和时, 即使降雨量少也易产生径流, 造成养分流失^[23]。而云南茶区施肥期均处于雨季, 尽管采取了开沟施肥措施, 但是大的降雨量可能造成坡地茶园中肥料养分的径流损失, 降低了不同施肥处理对土壤理化性质的影响。

3.2 施肥对茶园土壤真菌 Alpha 多样性的影响

试验茶园上下层土壤间的真菌物种多样性差异显著, 0—10 cm 土层土壤的物种总数显著高于 10—20 cm 土层, 这可能与上层土壤较高的 pH 和有机碳含量有关。研究发现, 土壤 pH 降低会引起真菌物种总数降低^[24]。而有机质含量高的土壤, 能为真菌的生长提供良好的环境, 有利于真菌物种总数的增加^[25]。这与本研究中表层土壤 pH、土壤有机碳含量显著高于下层土壤的结果相一致。

施肥对土壤真菌多样性的影响并不一致, 但是多数研究结果显示施用无机氮肥或者有机肥配施会降低土壤真菌群落的多样性^[25, 26-27]。施肥导致的真菌多样性降低可能是由于施肥刺激了某些特定微生物的大量生长, 但是抑制其它微生物生长, 从而导致多样性下降^[28]。然而也有研究发现长期施无机氮肥或者有机肥配施会增加土壤真菌多样性^[14]。不同的多样性指数也会得出不同的结论。蔡艳等人研究小麦种植土壤真菌群落时发现, 单施化肥或者有机肥配施降低了真菌群落的 Shannon 指数, 但增加了 Chao1 指数^[26]。本研究中与 CK 处理相比, N300 处理的真菌群落的物种总数和多样性均有所下降, 但差异并不显著, 而 OM30 处理土壤真菌 Chao1 多样性指数比 CK 显著降低 (表 2)。张海芳等人对草原土壤的研究显示, 无机氮肥主要是通过影响植物来改变真菌群落结构, 而对真菌群落的直接影响较小^[29]。但是本研究中有机肥配施并未增加土壤真菌的 Chao1 指数, 这与 Chu 等人在玉米小麦轮作的砂姜黑土土壤上的研究结果并不一致^[14]。但是与丁建莉等在东北黑土长期定位施肥试验的结果较为一致^[30]。对不同生态系统的比较研究发现, 茶园土壤中可观测到的 OTU 数远低于其它农田生态系统^[29], 与森林生态系统土壤的真菌群落结构较为相近^[27]。可以推测, 施肥对土壤真菌群落多样性的影响差异可能与植被类型与土壤性质有关^[31]。

3.3 施肥对茶园土壤真菌群落组成的影响

由图 1 发现, 受测土样的真菌群落结构主要由子囊菌门、担子菌门、接合菌门、亚壶菌门以及球囊菌门构成, 这与陈丹梅等人在植烟土壤和南方典型水稻土壤的研究结果相一致^[25, 32]。长期施肥可能会促使土壤中的真菌群落多样性降低, 群落结构主要朝子囊菌, 担子菌和接合菌三个方向演替。本研究中子囊菌门的群落

构成与 Sun 等在不同施肥模式的旱地土壤中的结果相一致,但接合菌门的纲水平组成则有所不同^[14]。Sun 等的实验中接合菌门的优势种群是 *Microbotryomycetes* 纲,而本研究中主要以 *Mortierellomycotina* 纲和 *Mucoromycotina* 纲为主。根据袁赛艳等人采用 DGGE 技术对茶园土壤真菌群落多样性的研究,*Mortierellomycotina* 纲和 *Mucoromycotina* 纲是茶园土壤真菌的优势物种^[11],表明不同植被覆盖可能会导致土壤真菌群落组成的差异。

在 0—10 cm 和 10—20 cm 土层中,总有机碳、总氮、总钾含量以及碳氮比是主导茶园土壤真菌群落结构产生变化的主要因子,而速效钾在 10—20 cm 土层中也发挥一定的作用,表明不同土层之间的真菌微生物群落结构可能受到土壤理化性质的影响。Zhang 等人在研究高寒地区的土壤真菌群落组成与土壤理化性质的关系时发现,pH 是真菌群落组成的最主要因素^[33]。但本研究中 pH 在同一土层的各处理间并无显著差异,RDA 分析和置换检验结果也显示在同一土层中,pH 并不是茶园土壤真菌群落结构差异的主控因子,推测茶园土壤本身的酸性较强,配施有机肥对于土壤 pH 的提升效果不明显,因此本研究中 pH 不是造成同层土壤不同处理间真菌群落结构差异的主要原因,推测 pH 的主控效应可能存在于不同植被覆盖体系间,而在同一作物土壤中,有机碳、氮以及速效磷才是影响茶园土壤真菌群落组成的主要因素^[33]。有研究表明土壤碳氮、速效养分等土壤性质之间存在显著差异,可能强烈的影响微生物群落结构^[34-35],这与本文中的 RDA 分析结果相一致。Chu 等关于不同土层之间微生物群落结构的变化研究也表明,土层之间微生物群落结构的差异来自于土层之间理化性质的差异,特别是土壤养分状况的差异^[36]。

4 结论

5 年不同施肥处理并未显著改变茶园土壤理化性质,但是不同施肥模式对土壤真菌丰度、多样性以及菌群组成具有显著影响。长期施用化学氮肥或有机无机肥配施能够明显降低茶园土壤中真菌群落的 Alpha 多样性。土壤 pH 对试验茶园土壤中真菌群落结构影响不显著,土壤有机碳、全氮、全钾、速效钾是影响茶园土壤真菌群落结构演变的重要因素。

参考文献 (References):

- [1] Smith A P, Marín-Spiotta E, de Graaff M A, Balser T C. Microbial community structure varies across soil organic matter aggregate pools during tropical land cover change. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 77: 292-303.
- [2] Olaniran A O, Balgobind A, Pillay B. Bioavailability of heavy metals in soil: impact on microbial biodegradation of organic compounds and possible improvement strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14(5): 10197-10228.
- [3] Fan X F, Yu H Y, Wu Q Y, Ma J, Xu H, Yang J H, Zhuang Y Q. Effects of fertilization on microbial abundance and emissions of greenhouse gases (CH_4 and N_2O) in rice paddy fields. *Ecology and Evolution*, 2016, 6(4): 1054-1063.
- [4] 韩玉竹, 曾兵, 黄建国. 多花黑麦草根际微生物研究. *中国草地学报*, 2011, 33(4): 78-82.
- [5] Siciliano S D, Palmer A S, Winsley T, Lamb E, Bissett A, Brown M V, van Dorst J, Ji M K, Ferrari B C, Grogan P, Chu H Y, Snape L. Soil fertility is associated with fungal and bacterial richness, whereas pH is associated with community composition in polar soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 78: 10-20.
- [6] 薛冬, 姚槐应, 黄昌勇. 植茶年龄对茶园土壤微生物特性及酶活性的影响. *水土保持学报*, 2005, 19(2): 84-87.
- [7] 韩文炎, 王皖蒙, 郭赟, 杨明臻, 贾仲君. 茶园土壤细菌丰度及其影响因子研究. *茶叶科学*, 2013, 33(2): 147-154.
- [8] Han W Y, Kemmitt S J, Brookes P C. Soil microbial biomass and activity in Chinese tea gardens of varying stand age and productivity. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(7): 1468-1478.
- [9] Han W Y, Xu J M, Yi X Y, Lin Y D. Net and gross nitrification in tea soils of varying productivity and their adjacent forest and vegetable soils. *Soil science and plant nutrition*, 2012, 58(2): 173-182.
- [10] 徐华勤, 肖润林, 邹冬生, 宋同清, 罗文, 李盛华. 长期施肥对茶园土壤微生物群落功能多样性的影响. *生态学报*, 2007, 27(8): 3355-3361.
- [11] 袁赛艳, 陈暄, 房婉萍, 王玉花, 朱旭君, 黎星辉. 茶树修剪物对茶园土壤真菌群落多样性影响研究. *茶叶科学*, 2015, 35(3): 255-262.
- [12] van der Heijden M G, Bardgett R D, van Straalen N M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in

- terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 2008, 11(3): 296-310.
- [13] Jones M D M, Forn I, Gadelha C, Egan M J, Bass D, Massana R, Richards T A. Discovery of novel intermediate forms redefines the fungal tree of life. *Nature*, 2011, 474(7350): 200-203.
- [14] Sun R B, Dsouza M, Gilbert J A, Guo X S, Wang D Z, Guo Z B, Ni Y Y, Chu H Y. Fungal community composition in soils subjected to long-term chemical fertilization is most influenced by the type of organic matter. *Environmental microbiology*, 2016, 18(12): 5137-5150.
- [15] Clemmensen K E, Finlay R D, Dahlberg A, Stenlid J, Wardle D A, Lindahl B D. Carbon sequestration is related to mycorrhizal fungal community shifts during long-term succession in boreal forests. *New Phytologist*, 2015, 205(4): 1525-1536.
- [16] Lange M, Habekost M, Eisenhauer N, Roscher C, Bessler H, Engels C, Oelmann Y, Scheu S, Wilcke W, Schulze E D, Gleixner G. Biotic and abiotic properties mediating plant diversity effects on soil microbial communities in an experimental grassland. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96182.
- [17] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [18] Jackson M L. *Soil Chemistry Analysis*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1958.
- [19] Chao A N. Nonparametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of statistics*, 1984, 11(4): 265-270.
- [20] Wang Y, Sheng H F, He Y, Wu J Y, Jiang Y X, Tam N F Y, Zhou H W. Comparison of the levels of bacterial diversity in freshwater, intertidal wetland, and marine sediments by using millions of Illumina tags. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(23): 8264-8271.
- [21] Legendre P, Gallagher E D. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia*, 2001, 129(2): 271-280.
- [22] 吴志丹, 尤志明, 江福英, 王峰, 翁伯琦. 配施有机肥对茶园土壤性状及茶叶产质量的影响. *土壤*, 2015, 47(5): 874-879.
- [23] 王云, 徐昌旭, 汪怀建, 谢志坚. 施肥与耕作对红壤坡地养分流失的影响. *农业环境科学学报*, 2011, 30(3): 500-507.
- [24] 陈丹梅, 袁玲, 黄建国, 冀建华, 侯红乾, 刘益仁. 长期施肥对南方典型水稻土养分含量及真菌群落的影响. *作物学报*, 2017, 43(2): 286-295.
- [25] Hedlund K. Soil microbial community structure in relation to vegetation management on former agricultural land. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(9): 1299-1307.
- [26] 蔡艳, 郝明德, 臧逸飞, 何晓雁, 张丽琼. 不同轮作制下长期施肥旱地土壤微生物多样性特征. *核农学报*, 2015, 29(2): 344-350.
- [27] 高微微, 康颖, 卢宏, 王秋玉. 城市森林不同林型下土壤基本理化特性及土壤真菌多样性. *东北林业大学学报*, 2016, 44(3): 89-94, 100-100.
- [28] 陈丹梅, 陈晓明, 梁永江, 霍新建, 张长华, 段玉琪, 杨宇虹, 袁玲. 轮作对土壤养分、微生物活性及细菌群落结构的影响. *草业学报*, 2015, 24(12): 56-65.
- [29] 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.
- [30] 丁建莉, 姜昕, 马鸣超, 关大伟, 赵百锁, 魏丹, 曹凤明, 李力, 李俊. 长期有机无机肥配施对东北黑土真菌群落结构的影响. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(4): 914-923.
- [31] 乔沙沙, 周永娜, 柴宝峰, 贾彤, 李巍. 关帝山森林土壤真菌群落结构与遗传多样性特征. *环境科学*, 2017, 38(6): 2502-2512.
- [32] 陈丹梅, 段玉琪, 杨宇虹, 晋艳, 黄建国, 袁玲. 长期施肥对植烟土壤养分及微生物群落结构的影响. *中国农业科学*, 2014, 47(17): 3424-3433.
- [33] Zhang X F, Xu S J, Li C M, Zhao L, Feng H Y, Yue G Y, Ren Z W, Cheng G D. The soil carbon/nitrogen ratio and moisture affect microbial community structures in alkaline permafrost-affected soils with different vegetation types on the Tibetan plateau. *Research in microbiology*, 2014, 165(2): 128-139.
- [34] Griffiths R I, Thomson B C, James P, Bell T, Bailey M, Whiteley A S. The bacterial biogeography of British soils. *Environmental microbiology*, 2011, 13(6): 1642-1654.
- [35] Zhang T, Wang N F, Liu H Y, Zhang Y Q, Yu L Y. Soil pH is a key determinant of soil fungal community composition in the Ny-Ålesund Region, Svalbard (High Arctic). *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 227.
- [36] Chu H Y, Sun H B, Tripathi B M, Adams J M, Huang R, Zhang Y J, Shi Y. Bacterial community dissimilarity between the surface and subsurface soils equals horizontal differences over several kilometers in the western Tibetan Plateau. *Environmental microbiology*, 2016, 18(5): 1523-1533.