

DOI: 10.5846/stxb201907171515

陈祖静,高尚坤,陈园,何平会,何茜,邱权,李吉跃.短期施肥对桉树人工林土壤真菌群落结构及功能类群的影响.生态学报,2020,40(11):3813-3821.
Chen Z J, Gao S K, Chen Y, He P H, He Q, Qiu Q, Li J Y. Effects of short-term fertilization on soil fungal community structure and functional group in *Eucalyptus* artificial forest. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(11): 3813-3821.

短期施肥对桉树人工林土壤真菌群落结构及功能类群的影响

陈祖静^{1,2}, 高尚坤¹, 陈园¹, 何平会¹, 何茜^{1,2}, 邱权^{1,2}, 李吉跃^{1,2,*}

¹ 华南农业大学林学与风景园林学院, 广州 510642

² 广东省森林植物种质创新与利用重点实验室, 广州 510642

摘要:为探索桉树人工林土壤真菌群落对短期施肥的响应特征,本研究利用 Illumina 高通量测序技术和 FUNGuild 平台,分析短期施肥和不施肥(control, CK)处理下土壤真菌的群落结构、功能类群及其影响因子。结果表明:桉树土壤真菌群落主要由担子菌门和子囊菌门主导,分别占 48.61%—46.74% 和 39.31%—38.08%,短期施肥对真菌门水平的影响不显著。在目水平上,施肥处理中牛肝菌目(23.73%)和散囊菌目(19.95%)的相对丰度显著高于 CK 处理,分别为 CK 的 7.65 和 1.72 倍,而古根菌目、爪甲团囊菌目、银耳菌目等优势菌目的相对丰度则低于 CK 处理。短期施肥后土壤真菌 α 多样性和丰富度指数有所降低,主坐标分析表明,施肥组与 CK 组真菌群落结构差异显著。桉树土壤真菌的营养类型以腐生型为主,施肥处理中共生型真菌相对丰度显著增加,是 CK 的 4.19 倍,且增加以外生菌根马勃菌为主,而大多数其他营养类型真菌的相对丰度则显著减少。冗余分析表明,土壤有效养分含量、微生物碳、土壤有机碳、pH 值和土壤含水量等土壤因子是影响群落的主要因子。短期施肥显著改变桉树人工林土壤真菌群落结构和功能类群,增加共生真菌比例,改善土壤质量。

关键词:土壤真菌; α 多样性; FUNGuild; 施肥; 桉树

Effects of short-term fertilization on soil fungal community structure and functional group in *Eucalyptus* artificial forest

CHEN Zujing^{1,2}, GAO Shangkun¹, CHEN Yuan¹, HE Pinghui¹, HE Qian^{1,2}, QIU Quan^{1,2}, LI Jiyue^{1,2,*}

¹ College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

² Guangdong Key Laboratory for Innovative Development and Utilization of Forest Plant Germplasm, Guangzhou 510642, China

Abstract: In order to investigate the response characteristics of the soil fungal community to short-term fertilization in *Eucalyptus* artificial forest, Illumina high-throughput sequencing and FUNGuild platforms were performed in this study. The soil fungal community composition, functional groups and their impact factors were analyzed under the short-term fertilization and non-fertilization (control, CK) treatments. As the result shown, Basidiomycota and Ascomycota were identified as the dominant fungi at the class level, accounting for 48.61%—46.74% and 39.31%—38.08%, respectively. The soil fungal community at the class level was not significantly changed by short-term fertilization. On the order level, the relative abundance of (23.73%) and Eurotiales (19.95%) was significantly increased by 7.65 and 1.72 times under the fertilization treatment, respectively, when compared with CK treatment. However, the ratios of Archaeorhizomycetales, Onygenales, Tremellales, and other dominant orders were obviously decreased in soil under the fertilization treatment. The alpha diversity and abundance index of soil fungi were slightly decreased under the fertilization treatment. Meanwhile, the

基金项目:国家重点研发计划(2016YFD0600201, 2016YFD060020102);国家自然科学基金项目(31800541, 31800527)

收稿日期:2019-07-17; **修订日期:**2019-11-21

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: 564857527@qq.com

principal coordinate analysis indicated that the fungal community composition was significant difference between the fertilization and CK treatments. Spatrotroph group was identified as the most dominate trophic group in the soil of *Eucalyptus* artificial forest. The ratio of symbiotroph group was significantly increased by 4.19 times under the fertilization treatment when compared with CK treatment. In addition, the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus* was mainly increased in the symbiotroph group, whereas the relative abundance of other trophic group fungi was obviously decreased. Moreover, the redundancy analysis showed that the soil fungal community was mainly influenced by the soil factors including the contents of soil available nutrition, soil organic carbon, microbial biomass carbon, pH value, and soil moisture. Our results indicated that the short-term fertilization treatment altered the soil fungal community structure and functional group in *Eucalyptus* artificial forest, and also increased the proportion of symbiotic fungi and improved the soil quality.

Key Words: soil fungi; alpha diversity; FUNGuild; fertilization; *Eucalyptus*

施肥显著影响土壤中碳(carbon, C)、氮(nitrogen, N)、磷(phosphorous, P)库和 C/N/P 比值及土壤微生物量,对生态系统的生物地球化学过程产生较大影响^[1-2]。土壤微生物是连接生态系统地下和地上部分的纽带,其对施肥的响应有不同观点^[3]。一些研究认为土壤微生物对施肥很敏感^[4]。另一些研究则报道,微生物对肥的添加响应不明显^[5]。目前,相关研究主要聚焦在土壤理化性质、微生物量或酶等对施肥的响应,这些指标较难全面反应土壤微生物的整体响应特征^[6-8]。

土壤微生物群落结构是土壤质量的重要指标之一,比土壤理化性质更能准确反映土壤质量,能更有效的响应土壤质量变化,如体现土壤是否退化或有所改良^[9-10]。首先,土壤微生物群落组成结构因植被类型、土壤类型、管理措施和肥料类型等的不同而异^[11-13]。其次,由于土壤微生物具有功能冗余,其功能类群更能够有效的响应外界环境的变化^[14]。施肥能够改变土壤的理化性质,改善土壤养分有效性,从而影响土壤微生物结构及功能类群,对提高植物生产力具有重要的作用^[15-16]。此外,真菌会与植物根系形成共生体,土壤养分富集一定程度上会促进菌根的生长,而当土壤养分贫瘠时,腐生真菌会率先降解土壤惰性有机质释放养分^[17-18]。研究表明,土壤真菌对养分和管理措施等影响较为敏感,比细菌对土壤环境的变化更加敏感^[19]。此外,真菌通过分解土壤有机质为植物提供有效养分,促进土壤团聚体形成而改善土壤结构,参与土壤物质转化、养分循环和能量转化^[20]。但目前关于施肥对土壤真菌群落影响的研究还较少。

近年来,随着高通量测序技术的不断发展及 FUNGuild 等预测分析真菌功能平台的开发和优化,越来越多学者开始关注真菌群落结构特征及功能的变化,以及其对植物生长发育的影响^[13,21]。桉树是南亚热带地区最重要的人工林树种之一,具有巨大的经济和生态价值^[22]。作为速生段轮伐期树种的代表,施肥是目前提高桉树人工林生产力最直接有效的方法,但短期施肥是否能有效影响土壤质量,土壤真菌群落特征是如何响应施肥措施等问题还不清楚,限制了桉树人工林土壤质量的有效调控。因此,本研究以桉树人工林土壤为研究对象,通过高通量测序技术和 FUNGuild 平台,探索桉树土壤真菌群落组成结构及其功能类群对短期施肥措施的影响特征,以及导致土壤真菌群落差异的影响因子,将有助于对桉树人工林土壤质量进行评价和改善,为桉树人工林的科学施肥及可持续生产提供参考依据。

1 试验地概况

试验样地位于广东省广州市增城区华南农业大学教学科研基地(23°14'48 N, 113°38'20 E),属于南亚热带季风气候,雨量充沛,年平均气温为 21.91℃,年均降水量为 2004.5 mm。土壤类型为典型的赤红壤。

供试桉树为尾巨桉(*Eucalyptus urophylla* × *E. grandis*) DH32-29 无性系健康苗,苗高为 20—35 cm,地径为 0.15—0.20 cm。2017 年 4 月全垦整地后使用宽行窄株种植,密度为 3 m × 2 m,1650 株/hm²。对照组(不施肥处理,control, CK)和水肥一体化施肥(施肥处理,fertilization, F)组分别设置 5 个(共 189 株)和 4 个(共 186 株)小区,CK 与施肥处理间用 5 mm 厚的聚丙烯板隔开,深度为 60 cm,以确保处理间土壤无肥料交换干扰和

减少滴管施肥处理对相邻区处理造成的影响。施肥处理参照我国桉树生产中的标准施肥量,穴施基肥 24 g 尿素, 72 g 五氧化二磷, 24 g 氧化钾, 每公顷 40 kg。2017 年 8 月开始使用水肥一体化技术, 分别按每株 10.28 g 尿素、67.11 g 磷酸二氢铵、16.24 g 氯化钾、1.06 g 四硼酸钠、0.26 g 硫酸锌溶于水后进行滴灌追肥, 滴速为 4 L/h, 每周 2 次, 每次连续 3 h, 每周共处理 8 h, 共处理 6 个月。

2 研究方法

2.1 样品采集

2018 年 1 月在每个小区采用对角线多点随机采集表层(0—15 cm)土壤, 每个小区随机选取 8 个点, 除去枯枝落叶层, 用内径为 5 cm 的土钻采集土样, 各小区内所有土芯分别充分混合, 并去除树根和石子等杂物, 置于自封袋内保存。每小区样品分为 2 部分, 一部分立即用液氮冷却带回实验室置于 -80℃ 保存, 用于 DNA 提取; 另一部分带回实验室后立即测定含水量, 其余样品自然风干并过 2 mm 筛后用于相关理化性质分析。

2.2 土壤理化性质测定

土壤 pH 值采用 1:2.5 (m/v) 土水比, 用酸度计 (PHS-3E, 雷磁, 中国) 测定; 全氮和土壤有机碳使用 C/N 测定仪 (IsoPrime100, Isoprime); 全磷含量采用浓硫酸-高氯酸消煮-钼锑抗比色法, 速效磷采用盐酸-氟化铵溶液浸提-钼锑抗比色法; 速效钾采用醋酸铵浸提-火焰光度计测定 (ICP-MS, 7700x, Agilent)。微生物碳 MBC (mg/kg) 采用氯仿熏蒸浸提法。

2.3 DNA 提取和 Illumina 测序

土壤微生物总 DNA 采用 PowerSoil kit (MoBio Laboratories Carlsbad, CA, USA) 试剂盒提取。用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 的完整性, NanoDrop 2000 分光光度计 (Thermo Scientific, USA) 检测 DNA 浓度和质量。利用真菌 18S 引物 SSU0817 (5'-barcode-TTAGCATGGAATAATRRATAGGA-3') 和 SSU1196R (5'-barcode-TCTGGACCTGGTGAGTTTCC-3') 进行聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 扩增。2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物质量, 利用试剂盒 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 对 PCR 产物进行纯化, 构建文库并通过 Illumina MiSeq 平台, 2×250 bp 的双端测序策略对文库进行测序 (美吉生物公司, 上海)。

2.4 序列分析和真菌鉴定

测序数据进行拼接和质控, 去除低质量序列, 使用 QIIME (Quantitative Insights into Microbial Ecology) 1.7.0-dev pipeline (<http://www.qiime.org>) 进行分析, 序列间 97% 以上的相似性归并到一个分类单元 (Operational taxonomic units, OTU) 中, 并用核糖体数据库 (Ribosomal Database Project, RDP) (<http://rdp.cme.msu.edu/>) 进行归并, 获得分类操作单元 OTU。通过比对 UNITE 数据库 (<https://unite.ut.ee/>) 进行物种信息比对, 鉴定真菌群落, 获得每条 OTU 序列在界、门、纲、目、科、属、种分类水平上的分组信息。

2.5 真菌功能类群 FUNGuild 分析

真菌的营养类型及其功能类群分类利用工具 FUNGuild v1.0, 步骤为将 QIIME pipeline 输出的 OTU 信息合并, 物种信息附加在 OTU 表格中, 上传至 FUNGuild (<http://www.stbates.org/guilds/app.php>) 平台进行比对分析, 输出结果包含了物种的分类单位 (Taxon)、物种分类级别 (Taxon Level)、营养型 (Trophic Mode)、功能分组 "Guild" 和可信度 "Confidence" 等信息。为了不过度解读真菌功能群, 只保留置信度 "极可能" (highly probable) 和 "很可能" (probable) 两个等级^[21]。

2.6 数据处理与分析

OTUs 数、相对丰度、 α 和 β 多样性、主坐标分析 (Principal coordinate analysis, PCoA) 和 Adonis 非参数检验等使用 R 语言 (3.4.3/3.1.0) 进行计算。数据差异显著性统计分析采用 SPSS 21.0 (Chicago, USA) 软件, 施肥与对照处理的土壤理化性质、多样性指数、真菌群落及功能的差异采用方差分析 (One-way ANOVA)。土壤真菌群落结构与土壤理化性质之间的相关关系采用冗余分析 (Redundancy analysis, RDA)。同时, 利用

GraphPad Prism 6.0 软件进行绘图。

3 结果与分析

3.1 施肥对土壤因子的影响

土壤酸碱度、含水量、氮磷钾含量等是影响微生物生长的重要因子。桉树土壤因子对施肥的响应如表 1 所示。与对照处理相比,施肥极显著降低了土壤的含水量和 pH 值,而土壤总氮、总磷和微生物碳含量显著增加,速效磷、速效钾和土壤有机碳含量极显著增加,其中,施肥处理中速效磷和速效钾含量分别是 CK 的 21.45 和 1.50 倍。说明施肥处理显著提高了土壤肥力,但同时也导致土壤酸化和土壤含水量降低。

表 1 施肥对土壤基本理化性质的影响

Table 1 Effects of fertilization on soil physicochemical properties

土壤因子 Soil parameter	对照 Control	施肥 Fertilization
含水量 Moisture/%	10.09±0.45	9.09±0.09 **
土壤 pH Soil pH	4.94±0.18	4.44±0.01 **
总氮 Total nitrogen /(g/kg)	0.18±0.00	0.20±0.03 *
总磷 Total phosphorus /(g/kg)	0.13±0.00	0.15±0.02 *
速效磷 Available phosphorus/(mg/kg)	0.20±0.00	4.29±0.64 **
速效钾 Available potassium/(mg/kg)	9.49±0.25	14.26±0.94 **
微生物碳 Microbial biomass carbon/(mg/kg)	49.22±13.40	67.18±4.43 *
土壤有机碳 Content of soil organic carbon/(g/kg)	7.31±0.44	8.81±1.04 **

“*”和“**”分别代表处理间差异显著和极显著

3.2 桉树土壤真菌群落及其多样性对施肥的响应

对测序结果进行比对,得到 1150303 条高质量序列,每个处理所测得的序列数约为 39439—50187 条。在 97%的相似性水平下聚类共得到 307 个 OTU,聚类为 29 门,51 纲,79 目,99 科,109 属,145 种,CK 与施肥处理土壤真菌共有 OTU 为 236 个。施肥对桉树土壤真菌群落组成及其相对丰度在门和目水平的影响表明,桉树土壤微生物的优势真菌为担子菌门 Basidiomycota (48.61%—46.74%) 和子囊菌门 Ascomycota (39.31%—38.08%),优势门在施肥处理中占比略低于 CK 处理,但处理间差异不显著($P>0.05$) (表 2)。从目水平上看,桉树土壤优势真菌为散囊菌、古根菌、肉座菌、粪壳菌、柔膜菌、爪甲团囊菌、银耳菌和牛肝菌。不同真菌的相

表 2 施肥处理桉树土壤门和目水平真菌群落组成和相对丰度/%

Table 2 Community compositions and relative abundance of fungi at the phylum and order levels in Eucalyptus soil with fertilization

门 Phylum	目 Order	对照 Control	施肥 Fertilization
子囊菌 Ascomycota	散囊菌 Eurotiales	11.58±1.55	19.95±3.10 *
	古根菌 Archaeorhizomycetales	6.60±0.95	1.59±0.46 *
	肉座菌 Hypocreales	9.60±0.79	8.17±2.48
	粪壳菌 Sordariales	3.26±0.46	2.61±0.77
	柔膜菌 Helotiales	1.17±0.26	0.93±0.14
	爪甲团囊菌 Onygenales	2.39±0.19	1.57±0.40 *
	未鉴定 unclassified	4.71±0.72	3.26±0.12 *
	小计 Total	39.31±2.55	38.08±0.43
担子菌 Basidiomycota	银耳菌 Tremellales	7.39±0.51	5.87±0.35 *
	牛肝菌 Boletales	3.10±0.40	23.73±4.29 *
	未鉴定 Unclassified	38.12±3.50	17.14±0.39 *
	小计 Total	48.61±2.85	46.74±3.21
其他 Other	其他 other	1.82±0.44	0.52±0.18 *

对丰度对施肥处理的响应不同,牛肝菌目和散囊菌目和在施肥处理中(23.73%和 19.95%)的优势地位显著高于 CK 处理中,分别为 CK 的 7.65 和 1.72 倍,施肥处理中古根菌目、爪甲团囊菌目、银耳菌目等其他优势菌目的相对丰度则低于 CK 处理。此外,其他已鉴定的种群含量在施肥处理后均有所变化,但相对丰度低于 1% (未列出)。因此,桉树土壤的优势真菌群落对施肥的响应在门水平没有发生显著变化,而在更高分辨率的目水平上,真菌群落呈现不同的响应特征(表 2)。

OTUs 水平的真菌群落 α 多样性结果表明,施肥处理后桉树土壤真菌群落的 Shannon 指数(2.77 ± 0.14)和丰富度指数 Ace (232.35 ± 23.27)、Chao1 值(228.61 ± 19.94)均降低,而表示群落内优势种地位和作用的 Simpson 指数有所升高,但不同处理间差异不显著(表 3)。进一步基于样本 OTU 水平的相异系数 bray-curtis 距离矩阵进行主坐标分析表明,施肥处理的真菌群落结构与 CK 显著分开,第一主成分解释了群落结构差异的 88.76%,第二主成分解释了群落结构差异的 7.58%,共同解释了群落结构差异的 96.34%。此外,Adonis 非参数检验表明施肥与对照处理间真菌群落结构差异极显著($P<0.01$)(图 1)。

表 3 施肥对土壤真菌 α 多样性指数的影响

Table 3 Effects of fertilization on soil fungi diversity parameters

处理 Treatment	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	丰富度指数 Abundance index	
			均匀度指数 Ace	丰富度指数 Chao 1
CK	2.91 ± 0.06	0.09 ± 0.01	238.96 ± 14.26	241.44 ± 13.55
F	2.77 ± 0.14	0.12 ± 0.02	232.35 ± 23.27	228.61 ± 19.94

3.3 真菌群落功能类群对施肥的响应

利用 FUNGuild 数据库对施肥与 CK 组真菌群落进行比对。结果如图 2 所示,CK 组真菌的营养型以腐生型(Saprotroph)为主(46.23%),病理型(23.54%)次之,其他类型和共生型分别占 20.52%和 9.07%。而施肥处理后,真菌的营养型则以共生型为主,相对丰度为 37.97%,是 CK 的 4.19 倍,其次为腐生型(37.54%)和病理型(13.23%),其他类型仅占 11.26%。表明施肥极显著改变了土壤真菌群落的营养类型,共生型真菌群落占比极显著增加,而其他营养类型的真菌群落极显著降低($P<0.01$)。

桉树土壤真菌群落主要鉴定为土壤腐生真菌、木质腐生真菌、其他腐生真菌、未定义腐生真菌、丛枝菌根真菌、外生菌根真菌、内生真菌、内生寄生菌、动物病原菌和植物病原菌 10 个主要功能群(图 3)。其中,未定义腐生真菌在 CK 中占比最高,相对丰度为 29.83%,其次为内生-寄生真菌(22.63%)和未定义真菌(20.59%),外生真菌占 7.31%。而施肥处理中外生菌根真菌占比最高,达到 36.88%,其次为未定义腐生真菌(32.82%)和内生寄生真菌(12.74%),未定义真菌占 11.26%(图 3)。进一步分析表明,共生真菌的优势属为马勃菌和球囊菌,其中马勃菌施肥后占比(36.52%)极显著增加,是 CK 的 5.03 倍,而其他共生真菌如球囊菌占比有所减少(未列出)。表明施肥显著增加了桉树土壤共生真菌中外生菌根真菌(尤其是马勃菌)和木质腐生真菌的富集,而降低了土壤腐生真菌、动物病原菌和植物病原菌等的相对丰度。

3.4 真菌群落结构变化与土壤因子的关系

进一步通过冗余分析研究土壤真菌群落变化与土壤理化性质的关系。如图 4 所示,土壤因子基本完全解

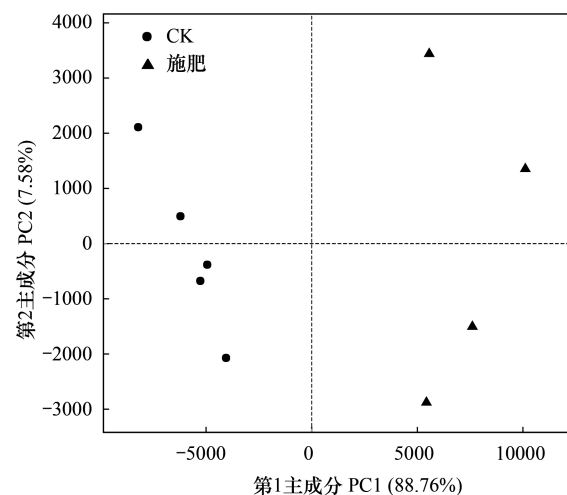


图 1 桉树土壤真菌群落组成的主坐标分析

Fig.1 Principal coordinate analysis (PCoA) of Eucalyptus soil fungal communities

释了(96.32%)真菌群落差异,第一轴土壤因子解释了真菌群落差异的 88.61%,第二坐标轴土壤因子解释了真菌群落差异的 7.71%。群落结构差异与有效磷($P < 0.01$)、土壤含水量($P < 0.01$)、有效钾($P < 0.01$)、pH($P < 0.05$)呈显著关系,土壤含水量($r = -0.947$)和 pH 值($r = -0.936$)与施肥呈负相关,而土壤有效磷($r = 0.998$)、SOC($r = 0.992$)、总氮($r = 0.991$)、速效钾($r = 0.987$)、MBC($r = 0.974$)和总磷($r = 0.804$)含量与施肥呈正相关。说明施肥改善了土壤质量,但可能导致一定的酸化和水分亏缺。

4 讨论

4.1 施肥对土壤真菌结构和功能群落的影响

土壤微生物对环境因子变化的响应极其敏感^[20]。不同的微生物类群呈现不同生态学功能,且不同分类学水平上的微生物类群对土壤质量的响应特征也不尽相同^[23-24]。本结果中,桉树人工林土壤以担子菌门和子囊菌门主导,大多数子囊菌门和担子菌门都是腐生型或者共生型的营养方式,这与大多数的研究结果一致^[13,21]。通常当土壤养分富集时,有利于富营养菌群的生长,而当土壤养分贫瘠时寡营养菌群的丰度相对增加^[17,18]。短期施肥后桉树土壤中担子菌门和子囊菌门与 CK 相比呈下降趋势,但差异不显著。而在目水平上,牛肝菌目和散囊菌目在施肥处理中的优势地位显著高于 CK 处理中,分别为 CK 的 7.65 和 1.72 倍,施肥处理中古根菌目、爪甲团囊菌目、银耳菌目等优势菌目的相对丰度则低于 CK 处理。这可能与不同真菌目类群

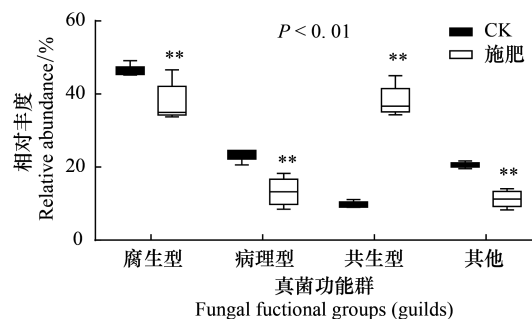


图2 施肥对土壤真菌营养类型的影响

Fig.2 Effects of fertilization on soil fungi trophic mode

“*”代表处理间差异极显著

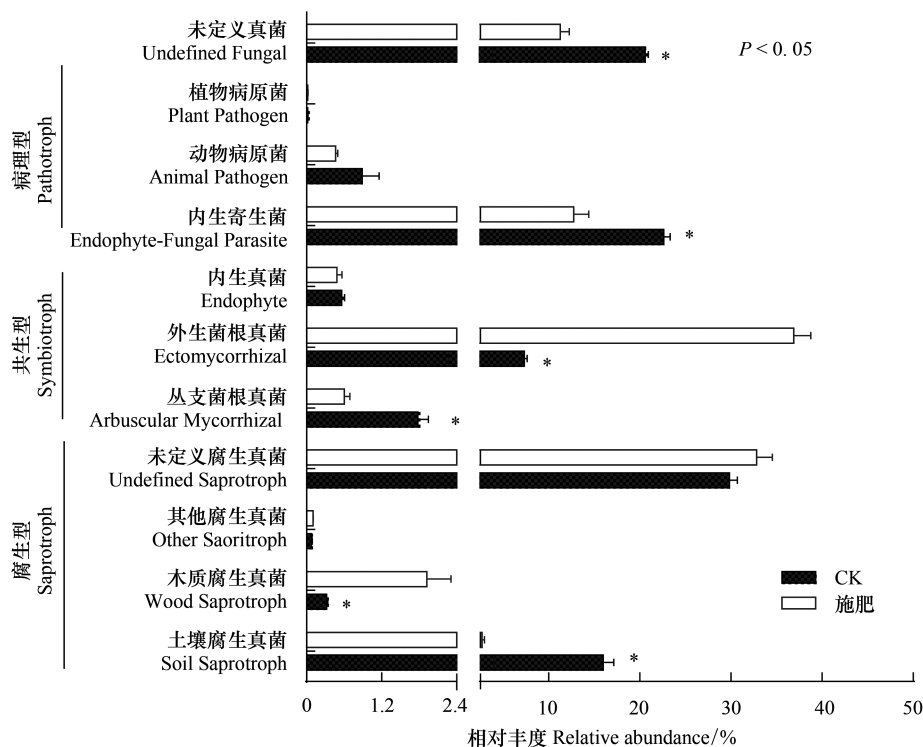


图3 施肥对土壤真菌功能类群的影响

Fig.3 Effects of fertilization on soil fungal functional groups (Guild)

“*”代表处理间差异显著

对资源的需求不同有关,短期施肥处理中显著增加的牛肝菌目和散囊菌目可能属于富营养菌群,而古根菌目、爪甲团囊菌目、银耳菌目可能是寡营养菌群(表2)。因此,更细的分类学水平能更准确的反映土壤真菌对短期施肥的响应特征。

本研究中,短期施肥使桉树人工林真菌多样性指数降低,处理间差异不显著(表3)。关于施肥对真菌多样性的研究结果不一致,这可能与施肥的种类有关,无机肥易导致土壤酸化,抑制真菌群落的生长,而有机肥不会导致土壤的酸化^[25-26]。其次,与施肥强度也间接影响真菌群落结构变化,如氮肥富集抑制腐生菌而活化部分菌根真菌,高氮肥会降低微生物量,而较低氮肥导致根尖外生菌根丰度下降,使真菌群落组成随氮肥梯度变化^[27-28]。短期施肥后桉树人工林土壤真菌的群落结构显著改变(图1),这与大多数的研究结果一致^[29]。其可能原因为:首先,真菌通常率先进入动植物残体,进行破碎化、腐殖质化,使得复杂的大分子有机质被降解为利于植物易于吸收的有效养分^[29];其次,真菌与植物形成共生体有效获取植物所需的养分,植物同时也为真菌生长提供所需的能量,如本研究中,短期施肥处理桉树人工林土壤中外生菌根真菌占比最高,且共生真菌马勃菌在施肥处理中极显著增加(图3)^[26];此外,酸碱度变化会导致部分真菌群落休眠或者激发,如本研究中的球囊菌(表1,图3)^[30]。因此,短期施肥显著影响了不同生态学功能的真菌类群,腐生型的真菌较少通过降解复杂的有机质来释放养分,而共生型的真菌丰度相反会升高,从而改善土壤质量。

4.2 真菌群落变化与土壤因子的关系

短期施肥后,桉树土壤总氮、总磷、有效磷、速效钾含量显著增加(表1),真菌群落对施肥产生显著响应(图1),土壤因子解释了真菌群落结构差异的96.32%,说明施肥显著提高了土壤肥力(图4),这与前人研究结果一致^[27]。土壤有机碳和MBC的含量是土壤健康的重要指标^[8]。研究表明,添加氮磷钾后,植物、土壤和微生物生物量C、N、P库影响显著增加^[2,8]。增加氮的投入会减少微生物量,但旱地作物土壤中的微生物往往受益于矿物肥料的投入,矿质肥料的添加显著增加水稻土壤微生物碳和有机碳含量^[26]。本研究中,施肥增加了土壤微生物总量,提高了土壤碳的固定,土壤真菌群落变化对施肥的响应与MBC和SOC呈正相关(表1,图4)。施肥促进植物生产力提高可能导致有机C的投入增加,进而增加MBC的含量^[8]。此外,pH也是主导土壤微生物群落结构的主要限制因子,土壤酸碱度会导致部分类群进入休眠状态^[30]。桉树土壤真菌群落变化对施肥的响应与pH和土壤含水量呈负相关,表明施肥导致了土壤酸化和土壤含水量减低(表1,图4)。总之,施肥有效的改善了土壤的质量,也同时导致部分酸化,土壤环境因子能有效的解释微生物群落的差异,土壤养分和土壤pH受到施肥显著影响,从而影响土壤真菌群落特征。

本研究在一定范围揭示了桉树人工林土壤真菌结构和功能类群对短期施肥的响应及与土壤理化性质的关系。然而,土壤是个复杂的系统,土壤中其他微生物如细菌、土壤其他理化因子及相关酶是如何响应长期施肥处理等问题还有待进一步研究。此外,FUNGuild数据库是基于目前已有的数据和文献资料进行的,目前相关应用还较少,其数据库还有待完善,同时也需要开发其他分析方法以更好的研究真菌所行使的功能。

5 结论

桉树土壤真菌主要由担子菌门和子囊菌门构成,短期施肥显著改变了真菌群落结构,更细分类学水平能

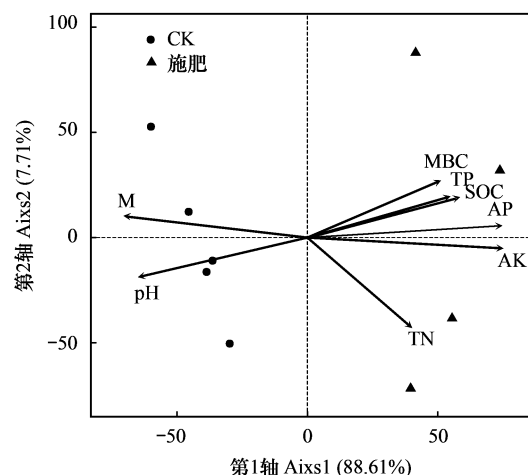


图4 施肥处理土壤真菌群落组成与土壤理化因子的RDA分析

Fig.4 The redundancy analysis of soil fungal community composition with soil physicochemical factors under fertilization

箭头代表环境因子变量;M:含水量 moisture;MBC:微生物碳 microbial biomass carbon;SOC:土壤有机碳 soil organic carbon;TN:总氮 total nitrogen;TP:总磷 total phosphorus;AP:速效磷 available phosphorus;AK:速效钾 available potassium

够更加准确的反映不同类群对施肥的响应特征;其次,功能类群相对于群落结构对短期施肥的响应更加敏感,不同生态学功能群的响应不同,短期施肥使优势共生型真菌尤其是外生菌根真菌相对丰度显著增加;此外,土壤有效养分含量、土壤含水量、pH 值是影响真菌群落变化的主要原因。因此,合理施肥能有效改善土壤质量,从而提高地上植物的生产力。

参考文献 (References):

- [1] Li Y, Niu S L, Yu G R. Aggravated phosphorus limitation on biomass production under increasing nitrogen loading: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 2016, 22(2): 934-943.
- [2] Bedada W, Lemenih M, Karlton E. Soil nutrient build-up, input interaction effects and plot level N and P balances under long-term addition of compost and NP fertilizer. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2016, 218: 220-231.
- [3] Huang W J, Zhou G Y, Liu J X. Nitrogen and phosphorus status and their influence on aboveground production under increasing nitrogen deposition in three successional forests. *Acta Oecologica*, 2012, 44: 20-27.
- [4] Huang J S, Hu B, Qi K B, Chen W J, Pang X Y, Bao W K, Tian G L. Effects of phosphorus addition on soil microbial biomass and community composition in a subalpine spruce plantation. *European Journal of Soil Biology*, 2016, 72: 35-41.
- [5] Liu L, Gundersen P, Zhang T, Mo J M. Effects of phosphorus addition on soil microbial biomass and community composition in three forest types in tropical China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 44(1): 31-38.
- [6] Knight R, Jansson J, Field D, Fierer N, Desai N, Fuhrman J A, Hugenholtz P, van der Lelie D, Meyer F, Stevens R, Bailey M J, Gordon J I, Kowalchuk G A, Gilbert J A. Unlocking the potential of metagenomics through replicated experimental design. *Nature Biotechnology*, 2012, 30(6): 513-520.
- [7] Gittel A, Bárta J, Kohoutová I, Mikutta R, Owens S, Gilbert J, Schnecker J, Wild B, Hannisdal B, Maerz J, Lashchinskiy N, Čapek P, Šantrůčková H, Gentsch N, Shibistova O, Guggenberger G, Richter A, Torsvik V, Schleper C, Urich T. Distinct microbial communities associated with buried soils in the Siberian tundra. *The ISME Journal*, 2014, 8(4): 841-853.
- [8] Geisseler D, Linquist B A, Lazicki P A. Effect of fertilization on soil microorganisms in paddy rice systems - A meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 115: 452-460.
- [9] Vimal S R, Singh J S, Arora N K, Singh S. Soil-plant-microbe interactions in stressed agriculture management: a review. *Pedosphere*, 2017, 27(2): 177-192.
- [10] Song D L, Xi X Y, Zheng Q, Liang G Q, Zhou W, Wang X B. Soil nutrient and microbial activity responses to two years after maize straw biochar application in a calcareous soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 180: 348-356.
- [11] Kivlin S N, Hawkes C V. Tree species, spatial heterogeneity, and seasonality drive soil fungal abundance, richness, and composition in Neotropical rainforests. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(12): 4662-4673.
- [12] 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.
- [13] Nie S A, Lei X M, Zhao L X, Brookes P C, Wang F, Chen C R, Yang W H, Xing S H. Fungal communities and functions response to long-term fertilization in paddy soils. *Applied Soil Ecology*, 2018, 130: 251-258.
- [14] Aronson E L, Dubinsky E A, Helliker B R. Effects of nitrogen addition on soil microbial diversity and methane cycling capacity depend on drainage conditions in a pine forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 62: 119-128.
- [15] Girvan M S, Bullimore J, Pretty J N, Osborn A M, Ball A S. Soil type is the primary determinant of the composition of the total and active bacterial communities in arable soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(3): 1800-1809.
- [16] Sessitsch A, Weilharter A, Gerzabek M H, Kirchmann H, Kandeler E. Microbial population structures in soil particle size fractions of a long-term fertilizer field experiment. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(9): 4215-4224.
- [17] Fierer N, Bradford M A, Jackson R B. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 2007, 88(6): 1354-1364.
- [18] Schneider T, Keiblinger K M, Schmid E, Sterflinger-Gleixner K, Ellersdorfer G, Roschitzki B, Richter A, Eberl L, Zechmeister-Boltenstern S, Riedel K. Who is who in litter decomposition Metaproteomics reveals major microbial players and their biogeochemical functions. *The ISME Journal*, 2012, 6(9): 1749-1762.
- [19] Thormann M N. Diversity and function of fungi in peatlands: a carbon cycling perspective. *Canadian Journal of Soil Science*, 2006, 86(S): 281-293.
- [20] Wardle D A, Bardgett R D, Klironomos J N, Setälä H, van der Putten W H, Wall D H. Ecological linkages between aboveground and belowground

- biota. *Science*, 2004, 304(5677): 1629-1633.
- [21] Nguyen N H, Song Z W, Bates S T, Branco S, Tedersoo L, Menke J, Schilling J S, Kennedy P G. FUNGuild: an open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, 2016, 20: 241-248.
- [22] 侯学会, 牛铮, 黄妮, 高帅. 广东省桉树碳储量和碳汇价值估算. *东北林业大学学报*, 2012, 40(8): 13-17.
- [23] 高尚坤, 肖文发, 曾立雄, 雷蕾, 黄志霖, 王松. 马尾松人工林干扰对土壤微生物群落结构的短期影响. *林业科学*, 2018, 54(12): 92-101.
- [24] Liu J S, Zhang X, Wang H, Hui X L, Wang Z H, Qiu W L. Long-term nitrogen fertilization impacts soil fungal and bacterial community structures in a dryland soil of Loess Plateau in China. *Journal of Soils and Sediments*, 2018, 18(4): 1632-1640.
- [25] Wang C, Liu D W, Bai E. Decreasing soil microbial diversity is associated with decreasing microbial biomass under nitrogen addition. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 120: 126-133.
- [26] Wang J C, Song Y, Ma T F, Raza W, Li J, Howland J G, Huang Q W, Shen Q R. Impacts of inorganic and organic fertilization treatments on bacterial and fungal communities in a paddy soil. *Applied Soil Ecology*, 2017, 112: 42-50.
- [27] Hasselquist N J, Högborg P. Dosage and duration effects of nitrogen additions on ectomycorrhizal sporocarp production and functioning: an example from two N-limited boreal forests. *Ecology and Evolution*, 2014, 4(15): 3015-3026.
- [28] Kjøller R, Nilsson L O, Hansen K, Schmidt I K, Vesterdal L, Gundersen P. Dramatic changes in ectomycorrhizal community composition, root tip abundance and mycelial production along a stand-scale nitrogen deposition gradient. *New Phytologist*, 2012, 194(1): 278-286.
- [29] Gao C, Shi N N, Chen L, Ji N N, Wu B W, Wang Y L, Xu Y, Zheng Y, Mi X C, Ma K P, Guo L D. Relationships between soil fungal and woody plant assemblages differ between ridge and valley habitats in a subtropical mountain forest. *New Phytologist*, 2017, 213(4): 1874-1885.
- [30] Bååth E, Anderson T H. Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(7): 955-963.