



有机肥替代部分化肥对温室土壤肥力和真菌群落的短期影响

杨 涵¹, 靳芙蓉², 关统伟¹, 徐红星², 胡小朋², 谢 强³

(1. 西华大学 食品与生物工程学院, 成都 610039; 2. 西宁市农业技术推广服务中心, 西宁 810008; 3. 成都复兴农源生物科技有限公司, 成都 610039)

摘要 为探讨有机肥替代部分化肥在短期内对土壤肥力和真菌群落特征的影响,以青藏高原温室土壤为研究对象,设置3种施肥处理:常规施加化肥 1 500 kg/hm² (XN001)、50%常规化肥量+有机肥 45 000 kg/hm² (XN002)和30%常规化肥量+有机肥 60 000 kg/hm² (XN003),采用常规分析和 Illumina MiSeq 高通量测序技术研究不同处理 2 a 后土壤养分含量和真菌群落结构的变化。结果表明:与常规施化肥(对照组 XN001)相比,有机肥替代部分化肥(处理组 XN002 和 XN003)提高了土壤有机质、全氮、速效磷、速效钾含量以及真菌群落丰富度,降低了土壤 pH 和真菌群落多样性。在门水平上检测出的 13 个已知真菌门中,子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota)为土壤中的主要真菌门,平均相对丰度分别为 47.87% 和 4.81%,且 XN003 处理的土壤中子囊菌门和担子菌门的相对丰度分别比对照组 XN001 提高 7.81% 和 12.35%。在属水平上,增施有机肥后土壤的真菌群落结构相对对照组也存在差异,其中 XN003 处理的土壤中有有益真菌被孢霉属(*Mortierella*)的相对丰度增加 1.86%,镰刀菌属(*Fusarium*)这类病原真菌的相对丰度降低 3.87%。Pearson 相关性分析显示,土壤真菌丰富度指数(Chao1 和 ACE)与 pH 呈负相关,与有机质、全氮、速效磷和速效钾含量呈正相关,其中速效磷含量也是影响土壤真菌多样性的重要环境因子。因此,与常规施加化肥相比,有机肥替代部分化肥能在短期内有效提高土壤肥力,优化土壤真菌群落结构,增加土壤有益真菌丰度,减少土壤病原真菌丰度,是一种应用前景良好的施肥制度。

关键词 有机肥;化肥;温室土壤;土壤肥力;真菌群落

中图分类号 S154.36

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2021)03-0422-09

2020 年农业农村部在我国全面实现化肥使用量零增长的基础上,再次印发了《2020 年种植业工作要点》的通知,强调继续深入开展化肥减量增效行动,保持化肥使用量负增长,拓展有机肥替代化肥的试点范围。施肥是农业生产中不可或缺的重要措施,可以直接或间接影响土壤的理化性质,在全球范围内被广泛用于提高土壤肥力和作物产量^[1]。自 20 世纪 80 年代以来,中国开始在农业生产上大量施用化肥,以满足人民日益增长的粮食需求^[2]。然而,化肥的过量施用也导致了土壤质量的严重退化,具体表现为土壤酸化^[3]、土壤养分利用率降低^[4]、土壤微生物胞外酶活性、呼吸速率以及生物量降低等^[5-6]。相比之下,施用有机肥可通过改变土壤物理结构、养分含量、酶活性及微生物群落结构,来降低或消除因长期单施或

过施无机肥对土壤质量产生的负面影响,因而逐渐成为提高土壤肥力的优先选择^[7]。如 Yang 等^[8] 和 Xia 等^[9] 均发现在农业生态系统中施用有机肥不仅可以增加土壤有机碳含量,还能显著提高作物产量。

真菌作为土壤微生物的重要组成部分,是评估土壤肥力和健康的关键指标之一,其生长的 pH 和温度范围广,抗逆性强,通常直接参与有机质循环、养分转化、重金属生物吸附及有机污染物降解等重要的土壤生态过程^[10]。此外,与细菌相比,真菌降解复杂有机物的能力更强,还能通过形成菌根与作物共生,在控制植物病害发生、促进作物生长、维持农业生态系统的稳定等方面发挥着关键作用^[11-12]。不同的施肥制度对土壤真菌的影响存在差异。Zhou 等^[13] 的研究表明,长期施加

收稿日期:2020-03-29 **修回日期:**2020-05-20

基金项目:四川省科技厅项目(2018NZ0110)。

第一作者:杨 涵,男,硕士研究生,研究方向为食品加工与安全。Email:466102543@qq.com

通信作者:关统伟,男,博士,副教授,主要从事微生物系统学与农业生物技术相关研究。E-mail:guantongweily@163.com

无机肥会降低东北黑土真菌群落多样性,促进病原真菌的生长。Lang 等^[14]的报道指出,施用有机肥能改变真菌群落的组成和丰度,并显著降低了作物根际土壤中黄萎病致病菌——大丽轮枝菌(*Verticillium dahlia*)的种群数量。因此,了解不同施肥制度下真菌群落的变化对选择最佳施肥方式,改善土壤生态环境具有重要意义。近年来已有大量研究报道土壤真菌对有机肥的响应特征,但这些研究多在长期施肥 30 a 以上的试验田内进行^[15-16],很少关注 3 a 以下短期有机肥的施加对土壤肥力和真菌群落的影响。本研究在现有文献^[17]的基础上加大有机肥施用量,通过 Illumina Miseq 高通量测序技术,探讨有机肥替代部分化肥在 2 a 内对温室土壤化学性质和真菌群落结构的影响,以期有机肥替代化肥在设施农业中的进一步推广应用提供理论与实践参考。

1 材料与方 法

1.1 试验区概况

试验于 2017 年 12 月至 2019 年 8 月在青海省西宁市多巴镇进行(36°38'43"N,101°35'36"E),试验地点属高原大陆性气候,海拔约为 2 457.3 m,年平均降水量为 378.3 mm,蒸发量为 1 451.1 mm,年平均气温为 4.5 °C,年均日照时数 2 588.3 h,无霜期 140~150 d。试验区前茬作物为茄子,采样时作物为辣椒。试验前土壤基本理化性质为:pH 8.92,有机质 16.31 g/kg,全氮 0.89 g/kg,速效磷 75.60 mg/kg,速效钾 192.00 mg/kg。

1.2 试验设计

试验在保温式大棚内进行,共设 3 个处理:(1)对照组(XN001):常规施加 100%复合化肥 1 500 kg/hm²; (2)处理组 1(XN002):50%常规复合化肥+有机肥 45 000 kg/hm²; (3)处理组 2(XN003):30%常规复合化肥+有机肥 60 000 kg/hm²。每个处理设置 3 次重复,共计 9 个小区,每个小区面积为 6 m×15 m=90 m²。供试有机肥为润苍有机肥(有机质≥45%,N+P₂O₅+K₂O≥5%),购自四川中农润泽生物科技有限公司;供试化肥为复合肥(N:P₂O₅:K₂O=10:15:25),购自成都华宏生物科技有限公司。常规化肥施加量与温室大棚管理措施均按照当地常规设施农业种植习惯进行。连续施肥 2 a 后采样分析土壤化学性质与真菌群落变化情况。

1.3 样品采集

2019 年 8 月采用五点法分别钻取各处理小区 1~30 cm 土层土壤,每个处理共计 15 个土样,过 2 mm 筛去杂、均匀混合后,采用四分法留取 1 kg 作为一个土壤处理样本。将每个土壤样本平均分成两份,一份置于-80 °C 冰箱保存,用于 DNA 的提取;另一份自然风干,用于理化指标的测定。

1.4 土壤化学性质测定

土壤化学性质的测定参照鲍士旦^[18]的方法。土壤 pH 测定采用酸度计法(土:水=1.0:2.5);土壤全氮(Total nitrogen, TN)的测定采用半微量凯氏定氮法;土壤速效磷(Available phosphorus, AP)的测定采用 0.5 mol/L NaHCO₃ 浸提—钼锑抗比色法;速效钾(Available potassium, AK)的测定采用 1 mol/L NH₄Ac 浸提—原子吸收火焰光度法;有机质(Soil organic matter, SOM)测定采用重铬酸钾容量法。所有土壤化学性质的测定重复 3 次。

1.5 土壤微生物 DNA 提取和高通量测序

采用 E. Z. N. ATM Mag-Bind Soil DNA kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, United States) 试剂盒提取土壤微生物基因组总 DNA,操作过程按试剂盒说明书进行。使用带有 Illumina 测序平台标签序列的已融合通用引物 ITS1F(5'-CT-TGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') 对真菌 ITS rDNA 上的 ITS1-ITS2 可变区进行两轮 PCR 扩增^[19]。第二轮 PCR 扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测和 0.8 倍的磁珠(Agencourt AMPure XP)纯化回收后,送至生工生物工程(上海)股份有限公司完成 Illumina MiSeq 高通量测序。

1.6 序列分析

经过质量过滤,剩余的高质量序列使用 USEARCH(version 5.2.236)在 97% 的相似水平下聚类为不同的操作分类单元(Operational Taxonomic Units, OTUs),比对的 ITS rDNA 参考数据库是 UNITE ITS database(<http://unite.ut.ee/index.php>)。然后用 RDP classifier 贝叶斯算法对 OTU 的代表性序列进行物种分类学分析,并在不同物种分类水平下统计每个样本的群落组成。所有序列都保存在 NCBI 的 SRA 数据库中,获得登录号为 SRR10533228、SRR10533227 和 SRR10533226。

1.7 数据处理

通过分析软件 MOTHUR(version 1.30.1) 计算 α 多样性指数(ACE、Chao1、Shannon、Simpson)。用 QIIME(version 1.8.0) 获取各组样本在门和属分类水平上的真菌群落组成。利用 R 语言工具(version 3.2) 绘制 OTU 分布维恩图、Shannon-Wiener 曲线和群落物种分布柱状图。采用 Microsoft Excel 2019 和 SPSS 21.0 对数据进行整理和统计分析,包括单因素 ANOVA 分析和 Pearson 相关性分析,并采用 Duncan's 法进行平均值显著性多重比较($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 土壤化学性质的变化

经过连续 2 a 的施肥处理,土壤 pH、有机质、全氮、速效磷和速效钾含量均发生显著变化(表 1, $P < 0.05$)。对照组 XN001 的土壤 pH 最高,为 8.23,相较之下 XN002 和 XN003 的土壤 pH 分别显著降低 0.28 和 0.70。随着有机肥施用量的增加,土壤有机质、全氮、速效磷和速效钾含量均有显著增加,与 XN001 相比,XN002 和 XN003

的有机质含量分别增加 35.07% 和 102.17%,全氮含量分别增加 32.97% 和 57.14%,速效磷含量分别增加 37.49% 和 50.69%,速效钾含量分别增加 10.88% 和 21.77%。可见,有机肥替代部分化肥能提高温室土壤的养分含量。

2.2 土壤真菌群落 OTU 差异分析

OTU 分布 Venn 图可以清晰地展现不同土壤样品之间真菌群落的 OTU 数目组成、特异性、重叠情况和相似性^[20]。本研究在 ITS 序列中共获得 161 697 条高质量序列,在 97% 的相似水平下共聚类为 1 722 个 OTU。图 1 显示,与对照组 XN001 相比,处理组 XN003 的土壤真菌 OTU 总数增加 3.88%。XN001 和 XN002 共有 OTU 32 个,XN001 和 XN003 共有 OTU 80 个,XN002 和 XN003 共有 OTU 26 个。3 个样品之间共有真菌 OTU 数量为 74 个,仅占总 OTU 数目的 4.30%,其中 XN001 独有的 OTU 为 588 个,XN002 独有的 OTU 为 298 个,XN003 独有的 OTU 为 624 个,各样品独有 OTU 占 OTU 总数的 17.31%~36.24%。可见,不同土壤样品之间的真菌群落物种组成存在一定差异。

表 1 不同土壤样品的化学性质

Table 1 Chemical properties of different soil samples

处理 Treatment	pH	SOM/(g/kg)	TN/(g/kg)	AP/(mg/kg)	AK/(mg/kg)
XN001	8.23±0.08 a	14.77±0.10 a	0.91±0.13 a	93.90±1.87 a	147.00±1.57 a
XN002	7.95±0.04 b	19.95±0.10 b	1.21±0.03 b	129.10±1.57 b	163.00±6.63 b
XN003	7.53±0.10 c	29.86±0.10 c	1.43±0.06 c	141.50±0.85 c	179.00±3.34 c

注:数据为“平均值±标准差”(n=3),同列数值后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下同。

Note: The data are “means±standard deviation”(n=3). Different lowercase letters indicate significant difference among different treatments at 0.05 level. The same below.

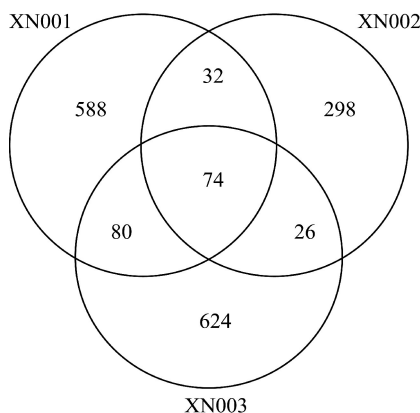


图 1 不同土壤样品真菌群落 OTU 维恩图

Fig. 1 Venn diagram of OTU numbers of fungal communities from different soil samples

2.3 土壤真菌群落的 Alpha 多样性

Shannon-Wiener 曲线反映样品文库测序数据量的合理性,同时也反映样品中微生物多样性的高低(图 2)。随着测序量不断增加,各样品的 Shannon 指数增长逐渐趋于平缓,曲线延伸终点处 XN001、XN002 和 XN003 的 Shannon 指数依次为 3.94、1.21 和 3.13,这表明获得的测序量足以真实代表温室土壤真菌群落的多样性。此外,本研究还在 97% 相似水平上计算各土壤样品测序的覆盖率,结果显示,各样品文库测序覆盖率均达到 99%(表 2),进一步说明本次测序数据能够真实地反映温室土壤的真菌群落特征。

ACE 和 Chao1 指数可以反映群落物种丰富度,数值越大,群落物种丰富度越高。由表 2 数据

可知,有机肥替代部分化肥后土壤真菌 ACE 和 Chao1 指数分别表现为 XN002 > XN003 > XN001 以及 XN003 > XN002 > XN001。与 XN001 相比,XN002 的 ACE 指数增加 49.72%,但 Chao1 指数仅增加 2.55%;XN003 的 ACE 和 Chao1 指数则分别增加 24.08%和 24.29%,说明有机肥替代部分化肥提高了土壤真菌群落的丰富度。此外,Shannon 和 Simpson 指数用于表征土壤微生物群落多样性,Shannon 值越大,群落多样性越高;而 Simpson 值越大,群落多样性越低。与 XN001 相比,XN002 和 XN003 的 Shannon 指数均有下降,分别降低 69.29%和 20.56%,符合 Shannon-Wiener 曲线的变化特征;与 Shannon 指数相反,XN002 和 XN003 的 Simpson 指数出现上升,分别增加 11.4 倍和 1.8 倍。综合 Shannon

指数和 Simpson 指数的变化可以发现,有机肥替代部分化肥降低土壤真菌群落的多样性。

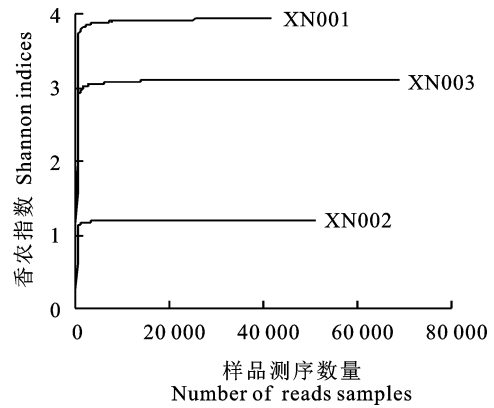


图 2 不同土壤样品的 Shannon-Wiener 曲线

Fig. 2 Shannon-Wiener curves of different soil samples

表 2 土壤真菌的 Alpha 多样性指数

Table 2 Alpha diversity indices of soil fungi

处理 Treatment	丰富度指数 Richness index		多样性指数 Diversity index		覆盖率/% Coverage
	ACE	Chao1	Shannon	Simpson	
XN001	1 897.54	1 539.61	3.94	0.05	99.14
XN002	2 841.07	1 578.82	1.21	0.62	99.45
XN003	2 354.51	1 913.63	3.13	0.14	99.42

2.4 土壤真菌群落结构特征

本研究从土壤样品中获得的 OTUs 共归属于 16 个真菌门,其中相对丰度大于 1%的真菌门主要有子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、被孢霉门(Mortierellomycota)和未分类真菌(unclassified Fungi)(图 3)。子囊菌门的平均相对丰度最高,为 47.87%,且在 3 种处理的土壤中所占比例均达 10%以上,是温室土壤中的最优势菌门。未分类真菌所占比例也较高,其平均相对丰度为 38.72%,且在 XN002 中相对丰度高达 85.86%。对于 XN001 中的真菌群落,子囊菌门、被孢霉门和担子菌门约占总序列数的 67.69%,未被分类到已知真菌的序列占 32.11%,其余相对丰度小于 1%的真菌只占 0.2%。与 XN001 相比,XN002 的子囊菌门相对丰度降低 48.94%,而 XN003 的子囊菌门相对丰度则提高 7.81%;对于担子菌门,其在 XN001 和 XN002 中的相对丰度较低($\leq 1\%$),但在 XN003 中却成为仅次于子囊菌门的优势菌门,相对丰度增至 13.35%;此外,被孢霉门在所有土壤样品中仅占 1.02%~4.81%。

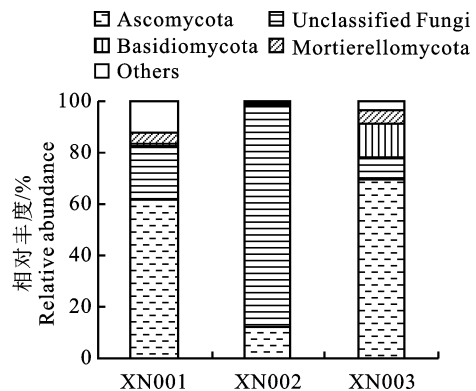


图 3 不同施肥处理门水平上真菌群落相对丰度

Fig. 3 Relative abundance of fungi phyla under different treatments

在属水平上,所有土壤样品共获得 229 个真菌属。图 4 为相对丰度排名前 10 的优势菌属,包括未知真菌属(unclassified Fungi)、未分类子囊菌门(unclassified Ascomycota)、未分类火丝菌科(unclassified Pyronemataceae)、久浩酵母属(*Guehomyces*)、镰刀菌属(*Fusarium*)和被孢霉属(*Mortierella*)等。除了未知真菌以外,久浩酵母隶属于担子菌门,被孢霉属隶属于被孢霉门,其

余优势菌属均隶属于子囊菌门,是子囊菌门序列的主要贡献者。未知真菌属是 3 个土壤样品共有的优势菌属,相对丰度为 9.13%~85.86%,同时也是 XN001 和 XN002 中的最优势属。XN003 中的最优势属为火丝菌科内的一些未知新属,相对丰度达 36.4%,比 XN001 和 XN002 分别高出 36.31%和 34.24%,次优势属为久浩酵母属,相对丰度为 12.16%,但该属在 XN001 和 XN002 中均未检出。可以发现,有机肥替代部分化肥改

变了土壤真菌群落结构,使土壤真菌优势属的组成及其相对丰度发生变化。此外,由于未知真菌属在 XN002 中相对丰度过高,引起物种分布均匀度过低,导致 XN002 中真菌群落多样性最低,而 XN001 和 XN003 中的真菌群落是由类似相对丰度的多个物种组成的,因此多样性均高于 XN002,这与前文中 Alpha 多样性的分析结果一致。

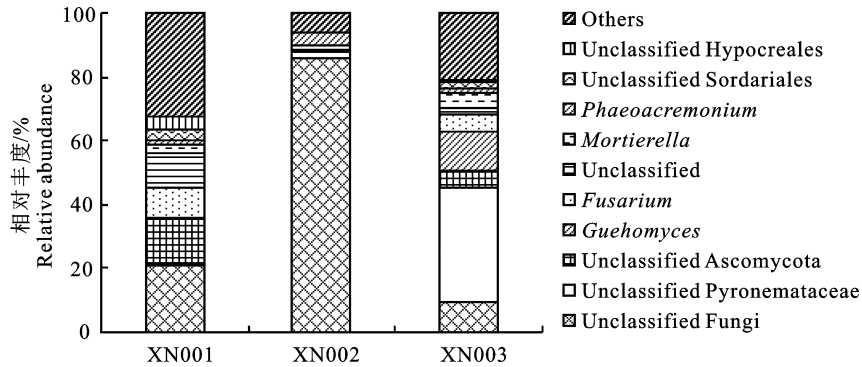


图 4 不同施肥处理属水平上真菌群落相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of fungal communities at genus level under different treatments

2.5 土壤真菌群落 Alpha 多样性与土壤化学性质的相关性

有研究表明,土壤真菌活性和群落多样性受土壤结构、pH、温度、水分、盐度等多种环境因子的调节^[10]。本研究 Pearson 相关性分析显示(表 3),温室土壤真菌群落的 Alpha 多样性指数与土壤化学性质如 pH、有机质、全氮、速效磷和速效钾含量存在一定的相关性,但相关性均未达显著

水平 ($P > 0.05$)。可以看出,土壤真菌群落 Chao1 指数与有机质、全氮、速效磷和速效钾含量均呈正相关,而与土壤 pH 呈负相关,说明土壤化学性质能够驱动真菌群落丰富度的改变;此外,Shannon 指数与土壤 pH、有机质、全氮和速效钾含量的相关系数均较低,但与速效磷含量呈较好的负相关,说明温室土壤中速效磷含量是真菌群落多样性的主要影响因子。

表 3 土壤真菌群落 Alpha 多样性指数与土壤化学性质之间的 Pearson 相关性

Table 3 Pearson correlation between Alpha diversity indices of soil fungal communities and soil chemical properties

相关性 Relevance	pH	SOM/(g/kg)	TN/(g/kg)	AP/(mg/kg)	AK/(mg/kg)
Chao1	-0.951	0.969	0.869	0.766	0.910
ACE	-0.381	0.321	0.560	0.700	0.484
Shannon	0.177	-0.114	-0.372	-0.534	-0.289
Simpson	-0.032	-0.032	0.234	0.405	0.147

3 讨论

3.1 有机肥替代部分化肥对土壤肥力的影响

面对日益增加的化肥施用量,需要全球共同制定有效的策略来恢复土壤质量和土著微生物生产力,施加有机肥是一项可行的方案^[21]。本研究表明,有机肥替代部分化肥后,土壤有机质、全氮、速效磷和速效钾含量均显著高于单施复合化肥处

理,这与 Bei 等^[4]在华北平原小麦-玉米轮作地中的研究结果一致。参照全国第二次土壤普查制定的养分分级标准^[22],XN001、XN002 和 XN003 的速效磷含量均处于“很丰富”(> 40 mg/kg)水平,达到 1 级肥力土壤(最高等级)的要求。XN001 的速效钾含量仅处于“中等”(100~150 mg/kg)水平,但增施有机肥后,XN002 和 XN003 的速效钾含量则提高到“丰富”(150~200

mg/kg)水平,并达到 2 级肥力土壤的要求。对于全氮含量, XN001 处于“缺乏”(0.75~1.00 g/kg)状态, XN002 和 XN003 则处于“中等”(1.0~1.5 g/kg)水平,达到 3 级肥力土壤的要求。土壤有机质作为反映土壤肥力的重要指标^[23],其在 XN001 和 XN002 中含量缺乏(10~20 g/kg),但在 XN003 中含量达到“中等”(20~30 g/kg)水平以及 3 级肥力土壤的要求,甚至接近“丰富”(30~40 g/kg)水平。可以看出,本研究有机肥替代化肥量最多的处理组 XN003 土壤综合肥力最高,说明有机肥确实有助于土壤有机质等营养物质的积累,进而提高土壤肥力。此外,有机肥替代部分化肥后土壤 pH 显著降低 0.28~0.70,这可能是由于有机肥中含有带羧基和酚羟基的有机酸,这些有机酸能在碱性土壤中积累,从而导致土壤 pH 下降^[24]。

3.2 有机肥替代部分化肥对土壤真菌 Alpha 多样性的影响

由 ACE 和 Chao1 指数可知,有机肥替代部分化肥会影响土壤真菌丰富度。Rousk 等^[25]发现,在 4.0~8.3 的 pH 范围内,较低的土壤 pH 有利于真菌生长。本研究增施有机肥后,土壤 pH 由 8.23 下降至 7.53,且与真菌丰富度呈负相关,这与上述学者的报道相符。此外, Ding 等^[16]报道称,真菌丰富度与土壤有机质呈正相关,而本研究则发现真菌丰富度与土壤有机质、全氮、速效磷和速效钾含量均呈正相关,且相关系数为 0.766~0.969。可见,有机肥替代部分化肥能通过降低土壤 pH 和增加土壤养分含量来提高土壤真菌丰富度。观察 Shannon 和 Simpson 指数的变化可以发现,增施有机肥会降低土壤真菌多样性,这与 Hartmann 等^[26]的报道一致,但与 Ding 等^[16]得到的研究结果相反,说明土壤类型、生态环境、施肥量以及施肥方式不同,土壤真菌多样性差异也比较大。另一方面, Bell 等^[27]认为施肥对土壤微生物多样性的影响可能与土壤养分含量的变化有关。Siciliano 等^[28]更加明确地指出磷是土壤细菌和真菌群落多样性的第二大驱动因子。由于真菌可以借助菌丝在土壤中延伸,增加其对水分和有效磷吸收的表面积,因此真菌对土壤中磷的敏感度高于细菌^[29]。本研究 Pearson 相关分析同样表明,土壤真菌多样性主要受到速效磷的调控,且与速效磷含量呈负相关。因此,有机肥替代部分化肥后土壤速效磷含量的增加可能是本

研究中土壤真菌多样性降低的关键原因。

3.3 有机肥替代部分化肥对土壤真菌群落结构的影响

子囊菌门为 3 个处理土壤中的共有优势真菌,这与江苏小麦—水稻轮作田^[30]对土壤真菌群落结构的报道基本一致。子囊菌门大多为腐生菌,是农业生态系统中的主要真菌门和土壤中难降解有机物的重要分解者,在养分循环方面起着关键作用^[31-32]。此外,还有研究发现子囊菌门既能降解多环芳烃(PAHs)^[33],又对重金属污染土壤中的铜、镉、铅、锌具有较高的清除率^[34],甚至对铝胁迫和铀胁迫也存在较强的耐受性^[35-36]。因此,本研究处理组 XN003 中子囊菌门的相对丰度比对照组 XN001 高出 7.81%,可能对提高土壤肥力、减少重金属和有机污染物在土壤中的积累起到了一定的积极作用。另一方面,与常规施化肥相比,有机肥替代化肥量最多的处理组 XN003 中镰刀菌属的相对丰度降低 3.87%,被孢霉属的相对丰度增加 1.86%。镰刀菌属为常见的土传性病原菌,不仅是辣椒^[37]、番茄^[38]、香蕉^[39]等作物枯萎病和根腐病的致病因子,还会产生伏马菌素(FB)等毒素污染小麦、玉米等谷物^[40]。被孢霉属作为一类腐生真菌,是一种潜在的生物控制剂,通常对土壤生态和作物健康有益,不但能很好地降解土壤中的植物凋落物和芳香烃,而且可以促进作物对磷的吸收,并对某些植物病原体 and 虫害具有防治作用^[41-42]。由此可见,有机肥替代部分化肥能优化土壤真菌群落结构,有效抑制土壤病原真菌的生长,并增加有益真菌的竞争优势,从而改善土壤生态环境,减少作物病虫害的发生。同时,增施有机肥后,土壤出现了新的优势菌属,如隶属于担子菌门的久浩酵母属仅在 XN003 中发现。久浩酵母属是一类海洋环境中常见的需氧型耐冷酵母菌,可分泌海藻糖帮助其抵御不良生活环境,曾在牛粪和玉米秸秆的堆肥中被检测为优势属^[43-44],测试的样本地点位于高原地区,比较寒冷,久浩酵母属的出现可能有助于温室大棚作物抵御不良环境。

4 结论

本研究利用 Illumina Miseq 高通量测序技术,分析了有机肥替代部分化肥对温室土壤肥力和真菌群落的影响。有机肥替代部分化肥能在短期内显著提高土壤肥力,增加土壤真菌群落丰富

度,降低土壤真菌群落多样性,并优化土壤真菌群落结构,使有益真菌相对丰度增加,病原真菌相对丰度降低,从而在一定程度上改善温室土壤生态环境。但未来还需要在本研究的基础上更加深入地揭示有机肥施用量与土壤真菌群落特征之间的关系,确定有机肥最佳施用量,为更加合理地利用有机肥维持土壤生态系统的稳定性提供科学依据。

参考文献 Reference:

- [1] ULLAH S, AI C, DING W, *et al.* The response of soil fungal diversity and community composition to long-term fertilization[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 140: 35-41.
- [2] GUO J H, LIU X J, ZHANG Y, *et al.* Significant acidification in major Chinese croplands [J]. *Science*, 2010, 327 (5968): 1008-1010.
- [3] SCHRODER J L, ZHANG H, GIRMA K, *et al.* Soil acidification from long-term use of nitrogen fertilizers on winter wheat[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2011, 75(3): 957-964.
- [4] BEI S, ZHANG Y, LI T, *et al.* Response of the soil microbial community to different fertilizer inputs in a wheat-maize rotation on a calcareous soil [J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2018, 260: 58-69.
- [5] RAMIREZ K S, CRAINE J M, FIERER N. Consistent effects of nitrogen amendments on soil microbial communities and processes across biomes[J]. *Global Change Biology*, 2012, 18(6): 1918-1927.
- [6] HOU S, XIN M, WANG L, *et al.* The effects of erosion on the microbial populations and enzyme activity in black soil of northeastern China [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(6): 295-301.
- [7] 刘纪爱, 束爱萍, 刘光荣, 等. 施肥影响土壤性状和微生物组的研究进展[J]. *生物技术通报*, 2019, 35(9): 21-28.
LIU J A, SHU A P, LIU G R, *et al.* Research progress on effect of fertilization on soil properties and microbiome[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2019, 35(9): 21-28.
- [8] YANG J, GAO W, REN S. Long-term effects of combined application of chemical nitrogen with organic materials on crop yields, soil organic carbon and total nitrogen in fluvo-aquic soil[J]. *Soil and Tillage Research*, 2015, 151: 67-74.
- [9] XIA L, LAM S K, YAN X, *et al.* How does recycling of livestock manure in agroecosystems affect crop productivity, reactive nitrogen losses, and soil carbon balance[J]. *Environmental Science and Technology*, 2017, 51(13): 7450-7457.
- [10] FR C M, HANNULA S E, BE KA M, *et al.* Fungal biodiversity and their role in soil health[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 707.
- [11] NAIR A, NGOUAJIO M. Soil microbial biomass, functional microbial diversity, and nematode community structure as affected by cover crops and compost in an organic vegetable production system[J]. *Applied Soil Ecology*, 2012, 58: 45-55.
- [12] BAGYARAJ D J, ASHWIN R. Soil biodiversity: role in sustainable horticulture [J]. *Biodivers Horticult Crops*, 2017, 5: 1-18.
- [13] ZHOU J, JIANG X, ZHOU B, *et al.* Thirty four years of nitrogen fertilization decreases fungal diversity and alters fungal community composition in black soil in northeast China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 95: 135-143.
- [14] LANG J, HU J, RAN W, *et al.* Control of cotton *Verticillium* wilt and fungal diversity of rhizosphere soils by bio-organic fertilizer [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2012, 48(2): 191-203.
- [15] HU X, LIU J, WEI D, *et al.* Effects of over 30-year of different fertilization regimes on fungal community compositions in the black soils of northeast China [J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2017, 248: 113-122.
- [16] DING J, JIANG X, GUAN D, *et al.* Influence of inorganic fertilizer and organic manure application on fungal communities in a long-term field experiment of Chinese Mollisols [J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, 111: 114-122.
- [17] YANG Y, LI X, LIU J, *et al.* Fungal community structure in relation to manure rate in red soil in southern China [J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 147: 103442.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
BAO SH D. Soil and Agricultural Chemistry Analysis [M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
- [19] ADAMS R I, MILETTO M, TAYLOR J W, *et al.* Dispersal in microbes: fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances [J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(7): 1262-1273.
- [20] 付亚娟, 张江丽, 侯晓强. 大花杓兰根际与非根际土壤真菌多样性的高通量测序分析 [J]. *西北农业学报*, 2019, 28(2): 253-259.
FU Y J, ZHANG J L, HOU X Q. Comparative analysis of fungi diversity in rizospheric and non-rizospheric soil from *Cypripedium macranthum* estimated via high-throughput sequencing [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2019, 28(2): 253-259.
- [21] SUN R, ZHANG X X, GUO X, *et al.* Bacterial diversity in soils subjected to long-term chemical fertilization can be more stably maintained with the addition of livestock manure than wheat straw [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 88: 9-18.
- [22] 徐倩, 宋佳, 田汇, 等. 青海省春油菜区土壤养分状况及施肥策略 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2019, 25(1): 157-166.
XU Q, SONG J, TIAN H, *et al.* Status of soil nutrients of spring rapeseed planting area and fertilization strategy in eastern Qinghai province [J]. *Journal of Plant Nutrition*

- and Fertilizer*, 2019, 25(1):157-166.
- [23] LAZCANO C, GMEZ-BRAND N M, REVILLA P, *et al.* Short-term effects of organic and inorganic fertilizers on soil microbial community structure and function[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49(6):723-733.
- [24] LIANG Q, CHEN H, GONG Y, *et al.* Effects of 15 years of manure and inorganic fertilizers on soil organic carbon fractions in a wheat-maize system in the North China plain [J]. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2012, 92(1): 21-33.
- [25] ROUSK J, BROOKES P C, B TH E. Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(6):1589-1596.
- [26] HARTMANN M, FREY B, MAYER J, *et al.* Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming[J]. *The ISME Journal*, 2015, 9(5):1177-1194.
- [27] BELL C W, ASAO S, CALDERON F, *et al.* Plant nitrogen uptake drives rhizosphere bacterial community assembly during plant growth[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 85:170-182.
- [28] SICILIANO S D, PALMER A S, WINSLEY T, *et al.* Soil fertility is associated with fungal and bacterial richness, whereas pH is associated with community composition in polar soil microbial communities[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 78:10-20.
- [29] LIU M, LIU J, CHEN X, *et al.* Shifts in bacterial and fungal diversity in a paddy soil faced with phosphorus surplus [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54(2):259-267.
- [30] WANG J, RHODES G, HUANG Q, *et al.* Plant growth stages and fertilization regimes drive soil fungal community compositions in a wheat-rice rotation system[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54(6):731-742.
- [31] LIENHARD P, TERRAT S, PRVOST-BOUR N C, *et al.* Pyrosequencing evidences the impact of cropping on soil bacterial and fungal diversity in Laos tropical grassland [J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2014, 34(2):525-533.
- [32] BEIMFORDE C, FELDBERG K, NYLINDER S, *et al.* Estimating the Phanerozoic history of the Ascomycota lineages: combining fossil and molecular data[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2014, 78:386-398.
- [33] HARMS H, SCHLOSSER D, WICK L Y. Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9(3): 177-192.
- [34] REN W X, LI P J, GENG Y, *et al.* Biological leaching of heavy metals from a contaminated soil by *Aspergillus niger*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 167(1/2/3):164-169.
- [35] 贺根和, 王小东, 刘 强, 等. 铝胁迫对酸性红壤中真菌种群多样性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(9): 1736-1742.
- HE G H, WANG X D, LIU Q, *et al.* Effect of aluminum stress on fungal community diversity in acidic red soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(9):1736-1742.
- [36] 肖诗琦, 宋 收, 陈晓明, 等. 高通量测序揭示铀污染对土壤真菌群落结构的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(8):1698-1704.
- XIAO SH Q, SONG SH, CHEN X M, *et al.* Effect of uranium pollution on the soil fungal community as revealed via high-throughput sequencing[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(8):1698-1704.
- [37] VELARDE-F LIX S, GARZ N-TIZNADO J A, HERNANDEZ-VERDUGO S, *et al.* Occurrence of *Fusarium oxysporum* causing wilt on pepper in Mexico [J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2018, 40(2):238-247.
- [38] LI Y T, HWANG S G, HUANG Y M, *et al.* Effects of *Trichoderma asperellum* on nutrient uptake and *Fusarium* wilt of tomato [J]. *Crop Protection*, 2018, 110:275-282.
- [39] SHEN Z, PENTON C R, LV N, *et al.* Banana *Fusarium* wilt disease incidence is influenced by shifts of soil microbial communities under different monoculture spans[J]. *Microbial Ecology*, 2018, 75(3):739-750.
- [40] CENDOYA E, CHIOTTA M L, ZACHETTI V, *et al.* Fumonisin and fumonisin-producing *Fusarium* occurrence in wheat and wheat by products: A review [J]. *Journal of Cereal Science*, 2018, 80:158-166.
- [41] LI F, CHEN L, REDMILE-GORDON M, *et al.* *Mortierella elongata*'s roles in organic agriculture and crop growth promotion in a mineral soil [J]. *Land Degradation and Development*, 2018, 29(6):1642-1651.
- [42] EDGINGTON S, THOMPSON E, MOORE D, *et al.* Investigating the insecticidal potential of *Geomyces* (Myxotrichaceae: Helotiales) and *Mortierella* (Mortierellaceae: Mortierellales) isolated from Antarctica [J]. *Springer Plus*, 2014, 3(1):289.
- [43] 张 芳. 南极低温酵母 *Guehomyces pullulans* 17-1 菌株中海藻糖的合成与调控[D]. 山东青岛:中国海洋大学, 2013.
- ZHANG F. Synthesis and regulation of trehalose in the psychrotolerant yeast *Guehomyces pullulans* 17-1 [D]. Qingdao Shandong: Ocean University of China, 2013.
- [44] 许修宏, 门梦琪, 孟庆欣, 等. 牛粪好氧堆肥中真菌群落组成的动态特征[J]. *东北农业大学学报*, 2019, 50(4):45-53.
- XU X H, MEN M Q, MENG Q X, *et al.* Dynamic characteristics of fungal community composition in aerobic cow manure compost [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2019, 50(4):45-53.

Short-term Effect of Partial Substitution of Inorganic Fertilizer with Organic Fertilizer on Soil Fertility and Fungal Communities in Greenhouse

YANG Han¹, JIN Furong², GUAN Tongwei¹,
XU Hongxing², HU Xiaopeng² and XIE Qiang³

(1. College of Food and Biological Engineering, Xihua University, Chengdu 610039, China;

2. Xining Service Center for Agricultural Technology Extension, Xining 810008, China;

3. Chengdu Fuxing Nongyuan Bio-Technology Co., Ltd., Chengdu 610039, China)

Abstract In order to explore short-term effect of partial substitution of inorganic fertilizer with organic fertilizer on soil fertility and fungal community characteristic, with soil in Qinghai-Tibet Plateau as research object, three fertilization treatments were set, which include conventional chemical fertilizer of 1 500 kg/hm², (XN001CK); combination of 50% chemical fertilizer with organic fertilizer of 45 000 kg/hm² (XN002), and 30% chemical fertilizer with organic fertilizer of 60 000 kg/hm² (XN003). The changes of soil nutrient content and fungal community structure under different treatments after two years were studied by use of conventional analysis method and Illumina MiSeq high-throughput sequencing technique. Compared with XN001 treatment, the treatment of substitution of chemical fertilizer with organic fertilizer (XN002 and XN003) significantly increased the contents of organic matter, total nitrogen, available phosphorus and available potassium and abundance of fungus communities in soil, but significantly decreased the soil pH. For 13 known fungal phyla in soil, Ascomycota and Basidiomycota were identified as the dominant fungal communities with an average relative abundance, accounting for 47.87% and 4.81%, respectively. Besides, the relative abundance of Ascomycota and Basidiomycota in soil under treatment of XN003 were 7.81% and 12.35% respectively higher than that under treatment of XN001. At the genus level, the fungal community structure in soil was different with control treatment after organic fertilizer was increasingly applied, of which the relative abundance of beneficial fungi *Mortierella* increased by 1.86% and the *Fusarium* associated with crop diseases decreased by 3.87% under the XN003 treatment. The Pearson's correlation analysis showed that fungal richness indexes, including the Chao1 and ACE, were negatively correlated with pH and positively correlated with organic matter, total nitrogen, available phosphorus, and available potassium in soil. Among them, the content of available phosphorus played a major role in determining variation of fungal diversity in soil. In conclusion, the partial substitution of inorganic fertilizer with organic fertilizer can be used to effectively enrich the soil fertility, optimize the soil fungal community structure, increase the proportion of soil beneficial fungi and decrease the relative abundance of soil pathogenic fungi in the short-term.

Key words Organic fertilizer; Inorganic fertilizer; Soil in greenhouse; Soil fertility; Fungal communities

Received 2020-03-29

Returned 2020-05-20

Foundation item Project of Science and Technology Department of Sichuan Province (No. 2018NZ0110).

First author YANG Han, male, master student. Research area: food processing and safety. E-mail: 466102543@qq.com

Corresponding author GUAN Tongwei, male, Ph. D, associate professor. Research area: microbiological systematics and agricultural biotechnology. E-mail: guantongweily@163.com

(责任编辑:潘学燕 **Responsible editor: PAN Xueyan**)