

陆水凤, 王呈玉, 杜燕, 等. 种稻年限对苏打盐碱土理化性质及真菌群落的影响[J]. 华南农业大学学报, 2019, 40(1): 15-22.
LU Shuifeng, WANG Chengyu, DU Yan, et al. Effects of rice planting years on physicochemical property and fungi community in soda saline-alkali soil[J]. Journal of South China Agricultural University, 2019, 40(1): 15-22.

种稻年限对苏打盐碱土理化性质及真菌群落的影响

陆水凤^{1†}, 王呈玉^{1†}, 杜燕¹, 吴阳生¹, 高云航², 刘淑霞¹

(1 吉林农业大学 资源与环境学院/吉林省商品粮基地土壤资源可持续利用重点实验室, 吉林 长春 130118;

2 吉林农业大学 动物科学技术学院, 吉林 长春 130118)

摘要:【目的】研究不同种稻年限对苏打盐碱土理化性质及真菌群落的影响, 为盐碱地改良提供理论依据。【方法】以分别种植水稻 1 年、3 年、5 年、15 年、20 年和 50 年的苏打盐碱地土壤为研究对象, 通过常规分析和 IlluminaMiSeq 平台测序分析, 对不同种稻年限苏打盐碱土基本理化性质及真菌在 ITS1+ITS2 区域的丰度和多样性进行研究。【结果】随种稻年限增加, 苏打盐碱土的 pH、电导率、总碱度以及水溶性盐分总量均显著下降; 有机质和微生物量碳含量显著增加; 全氮、铵态氮和硝态氮含量随种稻年限增加呈升高趋势; 速效磷含量先显著增加, 在种稻 20 年时达最大值, 之后略有下降; 速效钾含量没有明显变化规律。种稻 1 年、3 年、5 年、15 年、20 年和 50 年的土壤中获得的真菌有效序列数量分别为 56 942、42 482、45 987、92 214、64 665 与 68 515, 包括 5 门 12 纲 25 目 26 科 45 属 59 种, 其中枝孢菌属 *Cladosporium*、霍特曼尼菌属 *Holtermanniella* 和马氏链球菌属 *Massariosphaeria* 为优势菌属, 相对丰度均大于 2%。 α 多样性指数随种稻年限增加先增大后逐渐减小, 种稻 5 年时最大。土壤 pH、电导率、总碱度、水溶性盐分总量和速效钾含量是影响种稻后苏打盐碱土真菌群落结构的主要环境因素。【结论】种植水稻可以明显改变苏打盐碱土基本理化性质和真菌群落结构, 促进苏打盐碱土的改良。

关键词: 种稻年限; 苏打盐碱土; 理化性质; IlluminaMiSeq 测序; 真菌群落; 多样性

中图分类号: S154.3

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2019)01-0015-08

Effects of rice planting years on physicochemical property and fungi community in soda saline-alkali soil

LU Shuifeng^{1†}, WANG Chengyu^{1†}, DU Yan¹, WU Yangsheng¹, GAO Yunhang², LIU Shuxia¹

(1 College of Resource and Environmental Science, Jilin Agricultural University / Key Laboratory of Soil Resource Sustainable Utilization for Jilin Province Commodity Grain Bases, Changchun 130118, China; 2 College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: 【Objective】 To investigate the effects of different rice planting years on physicochemical properties and fungi communities of soda saline-alkali soil, and provide a theoretical basis for saline-alkali soil improvement.

【Method】 Soda alkali-saline soil that had been planted with rice for 1, 3, 5, 15, 20 and 50 years respectively were chosen as research objects. The routine analysis and IlluminaMiSeq platform sequencing analysis were conducted to study the basic soil physicochemical properties, richness and diversity of fungi in ITS1+ITS2 domain in soda saline-alkali soil with different rice planting year. 【Result】 With the increase of rice planting year, pH, electrical conductivity, total alkalinity and water soluble total salt of saline-alkali soil decreased

收稿日期: 2018-04-04 网络首发时间: 2018-12-28 14:39:00

网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20181227.1104.036.html>

作者简介: 陆水凤 (1989—), 女, 硕士研究生, E-mail: 18844145145@163.com; 王呈玉 (1975—), 女, 副教授, 博士, E-mail: wangchengyu2001@163.com; †对本文贡献相同; 通信作者: 刘淑霞 (1969—), 女, 教授, 博士, E-mail: liushuxia2005824@163.com

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFD0300405-4); 现代农业产业技术体系建设专项 (nycytx-38); 吉林省科技发展计划 (20160307006NY); 吉林省自然科学基金 (20170101077JC)

significantly; soil organic matter and microbial biomass carbon contents increased significantly; total nitrogen, ammonium nitrogen and nitrate nitrogen contents presented increasing trends; available phosphorus increased significantly first, reaching the maximum in the treatment of planting rice for 20 years, then decreased slightly; and available potassium content had no obvious changing pattern. The effective sequence numbers of fungi obtained in soil with 1-, 3-, 5-, 15-, 20- and 50- year rice planting periods were 56 942, 42 482, 45 987, 92 214, 64 665 and 68 515, including five phyla, 12 classes, 25 orders, 26 families, 45 genera and 59 species. *Cladosporium*, *Holtermanniella* and *Massariosphaeria* were dominant with relative abundance more than 2%. The α diversity indexes first increased and then decreased with the extension of rice planting years, reaching the largest in soil planted with rice for five years. Soil pH, electrical conductivity, total alkalinity, water soluble total salt and available potassium contents were the main environmental factors affecting fungi communities of soda alkali-saline soil after planting rice. 【Conclusion】 Planting rice can significantly change the basic physicochemical properties and fungi community structures of soda alkali-saline soil, and promote soil improvement.

Key words: rice planting year; soda saline-alkali soil; physicochemical property; IlluminaMiSeq sequencing; fungi community; diversity

全球盐碱地面积约 9.543 8 亿 hm^2 , 中国为 9 913 万 hm^2 , 吉林省西部地区的盐碱地面积约 170 万 hm^2 , 并以每年 1.4% 的速度增加^[1], 这对东北农业的发展造成了严重影响, 所以对其开发利用具有非凡意义。实践表明, 种植水稻不仅能有效提高苏打盐碱地的利用率^[2], 同时也是提高农民收入、农业增效以及改善土地生态环境的最佳方法。赵兰坡等^[3]通过“淡化表层”的方法开发盐碱地种植水稻, 科研和生产实践表明, 盐碱地水田耕层土壤的盐碱含量和碱化度均随水稻种植年限的增加而逐渐降低。

土壤微生物在动植物残体分解和 C、N、P、S 等元素的生物地球化学循环中起着非常重要的作用^[4-5], 土壤微生物种类和数量对环境因子变化和人为干扰的反应十分敏感, 能够及时反映土壤理化性质的变化^[6-7]。真菌是土壤生态环境的重要组成部分, 既可以分解有机物为植物提供养分, 保证植物健康生长, 也可以改善土壤结构与土壤肥力^[8], 影响土壤细菌群落的组成^[9], 是生态系统重要组成部分。自然环境中存在的真菌约 350~510 万种, 目前人类认识的仅占 5%~10%^[10], 说明人类对真菌的认识还远远不够。随着科学技术的不断发展, 基于焦磷酸测序 (Pyrosequencing) 技术的高通量测序系统已大规模应用^[11], 为更全面地了解土壤真菌群落结构多样性提供了技术支持。高通量测序具有分析样本量多和单次运行产生的数据量大等优点^[12], 得到很多研究者的青睐。目前, 16S/18S/ITS rDNA 扩增子测序技术已成为研究环境中微生物群落结构组成的重要手段。

本文通过 IlluminaMiSeq 测序平台^[13]进行 ITS rDNA 测序, 该平台在测序深度、通量、运行周期及

测序准确性方面均具有优势, 广泛应用于 16S/18S/ITS rDNA 扩增子测序。近年来, 双端读长拼接法使 IlluminaMiSeq 测序平台的读数达 600 bp, 分析准确性进一步提高, 因此通过该平台对不同种稻年限的苏打盐碱型水稻土进行 ITS rDNA 测序, 更能说明土壤真菌多样性及群落组成变化的真实情况。为深入了解不同种稻年限对苏打盐碱土基本理化性质、真菌多样性及群落结构变化的影响, 本研究具有一定的理论意义。

1 材料与方法

1.1 试验地

试验地位于中国吉林省前郭县套浩乡碱巴拉村 (124°29'E, 44°46'N), 属于中温带大陆性季风气候。年平均气温 4.8 $^{\circ}\text{C}$, 年积温 2 800 $^{\circ}\text{C}$, 年均降雨量 450 mm, 年均蒸发量 1 280 mm, 年均日照 2 800 h, 无霜期 135 d^[14]。供试土壤为不同种稻年限的苏打盐碱土。

1.2 土壤样品采集

2015 年秋收后在田间采集水稻土样品。水稻土种稻年限设 6 个处理: 种稻 1 年、3 年、5 年、15 年、20 年和 50 年。每个处理选 3 个地块 (2 m \times 2 m), 用对角线五点法采样, 然后将样品混合均匀, 最后将 3 个地块的样品充分混匀, 装于无菌自封袋中, 置于冰盒中带回实验室。新鲜土样用于土壤微生物量碳、硝态氮和铵态氮测定; 剩余土样一部分自然风干, 研磨过筛, 用于土壤其他基本理化性质测定, 另一部分保存在 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱用于 DNA 提取。

1.3 土壤基本理化性质测定

土壤理化性质测定的具体方法参照《土壤农业

化学分析方法》^[15]进行。pH 采用电位法测定 m (水): m (土)=2.5:1.0; 有机质含量采用重铬酸钾-浓硫酸容量法-外加热法测定; 全氮含量采用半微量开氏法测定; 硝态氮和铵态氮含量采用流动分析仪测定; 速效磷和速效钾含量采用碳酸氢钠和醋酸铵提取法测定; 电导率测定按 m (水): m (土)=5:1 的比例将水土混合均匀, 放置过夜, 用电导率仪 (上海雷磁 TM-03 型) 测定; 土壤水溶性盐分总量和总碱度测定前先将土壤样品做如下处理: 取 20 g 土样与 100 mL 蒸馏水于振荡瓶中振荡 3 min, 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 后过滤, 滤液即是水浸提液, 水溶性盐分总量采用总量-质量法测定, 总碱度采用电位滴定法测定。

1.4 土壤 DNA 提取及质量检测

按照 PowerSoil[®]DNA 提取试剂盒说明书对保存在 -80 °C 条件下的土壤样品进行 DNA 提取, 检测提取的 DNA 浓度及完整性。DNA 浓度采用 Qubit[®]2.0 荧光定量仪检测, 完整性用 8 g·L⁻¹ 的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.5 文库构建及 IlluminaMiSeq 测序

高通量测序文库的构建及 IlluminaMiSeq 平台的测序由 ZENEWIZ 公司 (苏州, 中国) 完成。以 5~50 ng DNA 为模板, PCR 扩增真菌 ITS rDNA 上的 ITS2 可变区, 通过 PCR 向 ITS rDNA 的 PCR 产物末端加上带有 Index 的接头。文库质量的检测采用 Agilent 2100 生物分析仪 (安捷伦, 美国) 并通过

Qubit 和实时定量 PCR 检测文库浓度。DNA 文库混合后, 根据 IlluminaMiSeq 仪器说明书进行双端测序, 通过 MiSeq 工具中的 MiSeq 控制软件进行图像分析与碱基识别, 最后在 Illuminabasespace 云端计算平台进行初始分类分析。

1.6 数据分析

采用 Excel 和 SPSS 24.0 对土壤基本理化性质数据进行统计及差异显著性分析, 采用 Canoco 5.0 进行冗余分析。双端测序得到的正反向 reads 首先两两组装连接, 过滤拼接结果中含有 N 的序列, 保留长度大于 200 bp 的序列。经质量过滤, 去除嵌合体序列, 取最终得到的序列进行 OTU 分析, 使用 VSearch 1.9.6 进行序列聚类分析, 序列相似性设为 97%, 比对的 ITS rDNA 参考数据库是 unite ITS 数据库 (<https://unite.ut.ee/>)。采用核糖体数据库程序分类器贝叶斯算法对 OTU 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。基于 OTU 的分析结果, 对样本序列进行随机抽样, 分别计算 Shannon 和 Chao1 等 α 多样性指数, 并作稀释曲线。

2 结果与分析

2.1 土壤基本理化性质

由表 1 可知, 随种稻年限增加, 土壤 pH、电导率、总碱度和水溶性盐分总量均显著下降 ($P<0.05$);

表 1 不同种稻年限苏打盐碱土基本理化性质的变化¹⁾

Table 1 Changes of the basic physicochemical properties of soda saline-alkaline soil with different rice planting year

处理 Treatment	1 年 One year	3 年 Three years	5 年 Five years	15 年 15 years	20 年 20 years	50 年 50 years
pH	9.29±0.01a	9.13±0.00b	8.82±0.02c	8.68±0.00d	8.34±0.00e	8.27±0.01f
电导率/($\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$)	526.33±0.58a	487.33±1.15b	456.00±1.00c	430.00±2.00d	408.33±1.15e	241.33±1.53f
Electroconductibility						
总碱/($\text{cmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	1.80±0.03a	1.65±0.03b	1.39±0.00c	1.25±0.01d	0.71±0.03e	0.54±0.01f
Total alkaloids						
水溶性盐分/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	2.27±0.03a	1.74±0.01b	1.65±0.04c	1.54±0.02d	1.32±0.04e	0.69±0.00f
Hydrolyte-salt						
有机质/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	18.53±0.05f	19.15±0.00e	21.54±0.09d	24.07±0.01c	25.77±0.08b	25.96±0.08a
Organic matter						
微生物量碳/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	232.42±0.28f	240.00±2.97e	282.95±1.36d	310.26±1.37c	373.89±2.35b	597.76±1.52a
Microbial biomass C						
全氮/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) Total N	0.72±0.03d	0.88±0.02cd	1.06±0.02bc	1.21±0.24ab	1.36±0.06a	1.41±0.17a
铵态氮/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) $\text{NH}_4^+\text{-N}$	1.87±0.49a	2.23±0.32a	2.12±0.69a	2.31±0.50a	2.46±0.95a	2.43±0.54a
硝态氮/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) $\text{NO}_3^-\text{-N}$	1.32±0.05d	1.86±0.07cd	2.72±0.12bc	3.37±0.43ab	3.13±0.77b	4.37±0.06a
速效磷/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) Available P	5.58±0.17f	11.62±0.02e	13.90±0.00d	14.90±0.06c	23.24±0.17a	19.76±0.01b
速效钾/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) Available K	123.51±0.58c	146.38±0.01b	165.98±0.01a	116.98±1.00c	121.88±0.71c	141.48±0.71c

1) 表中数据为平均值±标准差, 同行数据后不同小写字母者表示差异显著 ($P<0.05$, LSD 法)

1) The data in the table were $\bar{x}\pm\text{SD}$, different lowercase letters in the same column indicated significant difference ($P<0.05$, LSD method)

有机质与微生物量碳含量随种稻年限增加而显著性升高;全氮、铵态氮和硝态氮含量随种稻年限增加呈升高趋势;速效磷含量在种稻 20 年时达最大值,之后略有下降;速效钾含量没有明显的变化规律,表现为种稻 5 年>种稻 3 年>种稻 50 年>种稻 1 年>种稻 20 年>种稻 15 年。

2.2 土壤稀释曲线的建立

以随机抽取的 ITS 有效序列数量为横坐标, OTU 数量为纵坐标建立的曲线为稀释曲线^[6](图 1)。结果表明,有效序列数量为 0~5 000 时,随有效序列数量增加,OTU 数量迅速增加;有效序列数量为 5 000~30 000 时,OTU 数量缓慢增加;有效序列数量大于 30 000 时,OTU 数量基本趋于平缓。随抽取数据量加大,检测到的 OTU 数量不再增加,说明基本已达饱和状态,此时能够较准确地测定真菌序列数。从图 1 看出,当有效序列数量达到 28 890 后,真菌种(属)丰度以种稻 5 年的处理最高,种稻 50 年处理最低。

2.3 土壤真菌群落组成

6 个处理的土壤样品测序后共获得 403 763 条

序列,去除 32 958 条嵌合体序列后剩余 370 805 条有效序列,其中种稻 15 年处理的有效序列最多,为 92 214 条,种稻 3 年处理最少,为 42 482 条,种稻 1、5、20 和 50 年处理的有效序列数量居于二者之间,分别为 56 942、45 987、64 665 和 68 515 条。97% 相似性水平下对所有的有效序列进行 OTU 划分,并进行生物信息学统计分析,共获得 OTU 数量 500 个。种稻 1、3、5、15、20 和 50 年处理的 OTU 数量分别为 257、283、341、287、300 和 252 个,不同处理的土壤样品共有的 OUT 数量为 81 个,特有的分别为 3、12、7、30、17 和 20 个。鉴定所得到的真菌门水平有子囊菌门 Ascomycota、接合菌门 Zygomycota、担子菌门 Basidiomycota、壶菌门 Chytridiomycota 与未知菌门 5 大菌门(图 2),包括 12 纲 25 目 26 科 45 属 59 种。5 大菌门的 OTU 数量分别占 OTU 总数的 29.56%、10.40%、10.38%、0.12% 和 49.55%。各处理中这些菌门均有出现,但所占比例有差异,担子菌门随种稻年限的增加显著增多。

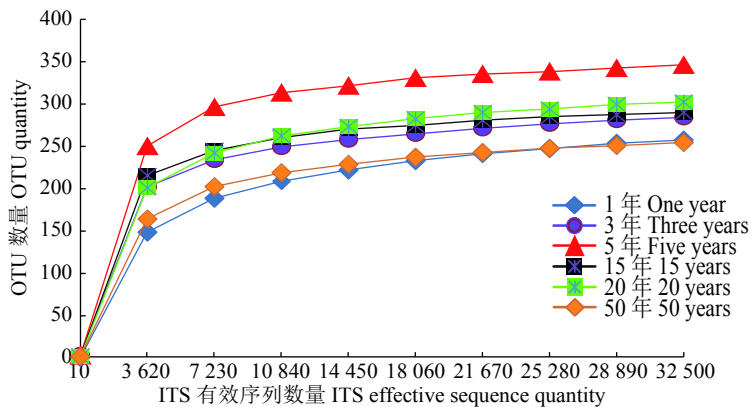


图 1 不同种稻年限苏打盐碱土真菌稀释曲线

Fig. 1 The dilution curve of fungi in soda saline-alkali soil with different rice planting year

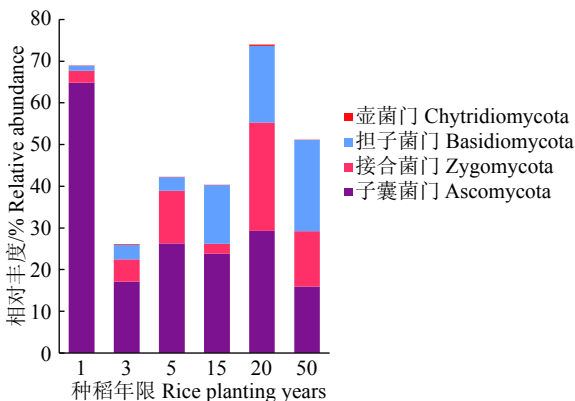


图 2 土壤真菌门水平组成及相对丰度(不含未知门)

Fig. 2 Soil fungi composition and relative richness at phylum level excluding unknown phyla

在属水平上,除未知菌属(87.48%)外,鉴定所得到的 45 个属中相对丰度大于 0.2% 的有 12 个属,分别为枝孢菌属 *Cladosporium* (2.66%)、霍特曼尼菌属 *Holtermanniella* (2.57%)、马氏链球菌属 *Massariosphaeria* (2.08%)、盾壳菌属 *Coniothyrium* (0.97%)、苦苣苔属 *Khuskia* (0.59%)、被孢菌属 *Mortierella* (0.52%)、镰刀菌属 *Fusarium* (0.41%)、地丝霉属 *Geomyces* (0.30%)、顶囊菌属 *Gaeumannomyces* (0.26%)、*Mrakia* (0.21%)、链格孢菌属 *Alternaria* (0.21%) 和毛霉菌属 *Trichocladium* (0.20%)。其余 33 个属的相对丰度仅占 1.73%,并且不同处理土壤真菌群落的组成比例具有明显差异。相对丰度排名前 20 的真菌属如图 3

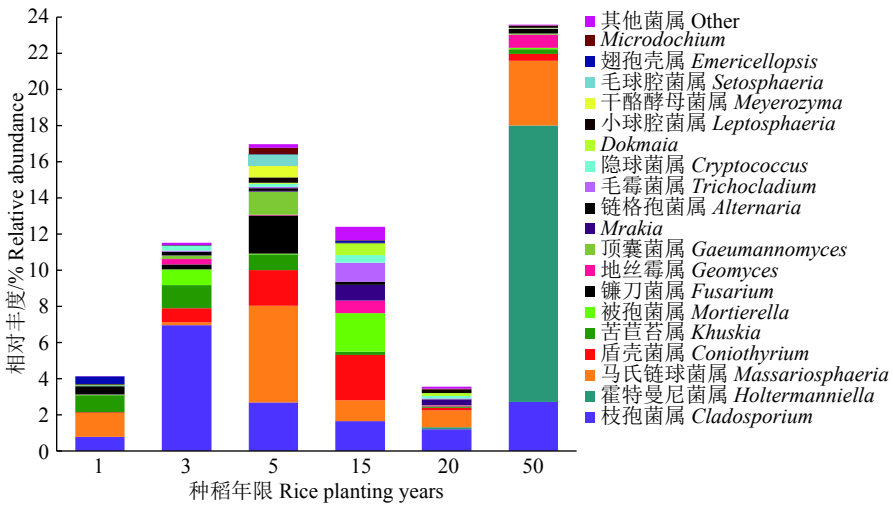


图 3 土壤真菌属水平组成及相对丰度 (不含未知属)

Fig. 3 Soil fungi composition and relative richness at genus level excluding unknown genus

所示。霍特曼尼菌属在种稻 15 年内均没有出现, 但从种稻 20 年处理的 0.11% 迅速增加到种稻 50 年的 15.29%, 其属于担子菌门, 银耳纲 Tremellomycetes。

2.4 土壤真菌多样性指数

α 多样性主要指单样本的多样性分析, 反映微生物群落中的物种数目。根据 OTU 列表中的各样品物种丰度, 利用 mothur 软件计算群落丰富度指数 (Ace 和 Chao1 指数)、群落多样性指数 (Shannon 和 Simpson 指数) 和覆盖率指数 (覆盖率) 等估计环境群落的物种丰度和多样性。由表 2 可知, 种稻 5 年处理的 Ace 和 Chao1 指数均最大, 说明它的物种丰

度最高。Shannon 指数和 Simpson 指数越大, 群落多样性越高, 随种稻年限增加, Shannon 指数和 Simpson 指数均先迅速增加随后逐渐减小, 种稻 5 年处理最大, 说明其群落多样性最高。这可能是由于原有微生物对种稻的反应非常敏感, 种稻明显影响土壤微生物使其发生变化, 直到再次稳定。各样本文库的覆盖率数值越高, 样本中序列被测出的概率就越高, 表 2 中各样本文库的覆盖率均不低于 99.9%, 说明测得的 OUT 数量能够反映各处理苏打盐碱土壤的真菌群落组成。

表 2 不同种稻年限苏打盐碱土真菌 α 多样性指数

Table 2 Fungal α diversity indexes of soda saline-alkaline soil with different rice planting year

年 Year	Ace 指数 Ace index	Chao1 指数 Chaol index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	OTU 数量 OTU quantity	覆盖率/% Coverage rate
1	273	270	3.103	0.650	257	99.9
3	305	342	5.944	0.967	283	99.9
5	350	356	6.204	0.968	341	99.9
15	294	295	5.635	0.948	287	100.0
20	314	322	4.641	0.887	300	99.9
50	262	275	4.196	0.871	252	99.9

2.5 土壤真菌群落与环境因子之间的关系

冗余分析可以解释采样点、土壤环境因子和物种三者之间或两两之间的相互关系。由图 4 看出, 种稻 1 年和种稻 3 年处理距离较近, 种稻 1 年、3 年, 种稻 5 年, 种稻 15 年, 种稻 20 年, 种稻 50 年处理为 5 个相对独立的群落, 说明种稻 1 年和 3 年处理的真菌群落相似, 其余处理间真菌群落差异较大。环境因子微生物量碳、速效磷、硝态氮、全氮、有机质和铵态氮, pH、电导率、总碱度和水溶性盐分总量

之间的夹角为锐角, 说明他们之间可能存在相互协同关系。土壤 pH、电导率、总碱度以及水溶性盐分总量与毛霉菌属、*Mrakia*、被孢菌属、隐球菌属 *Cryptococcus*、翅孢壳属 *Emericellopsis*、盾壳菌属、链格孢菌属、干酪酵母菌属 *Meyerozyma*、苦苣苔属、毛球腔菌属 *Setosphaeria*、镰刀菌属、顶囊菌属和 *Microdochium* 等真菌菌属数量呈正相关; 土壤硝态氮、铵态氮、速效磷、全氮以及有机质含量与上述真菌菌属数量的关系与其相反; 土壤微生物量碳含

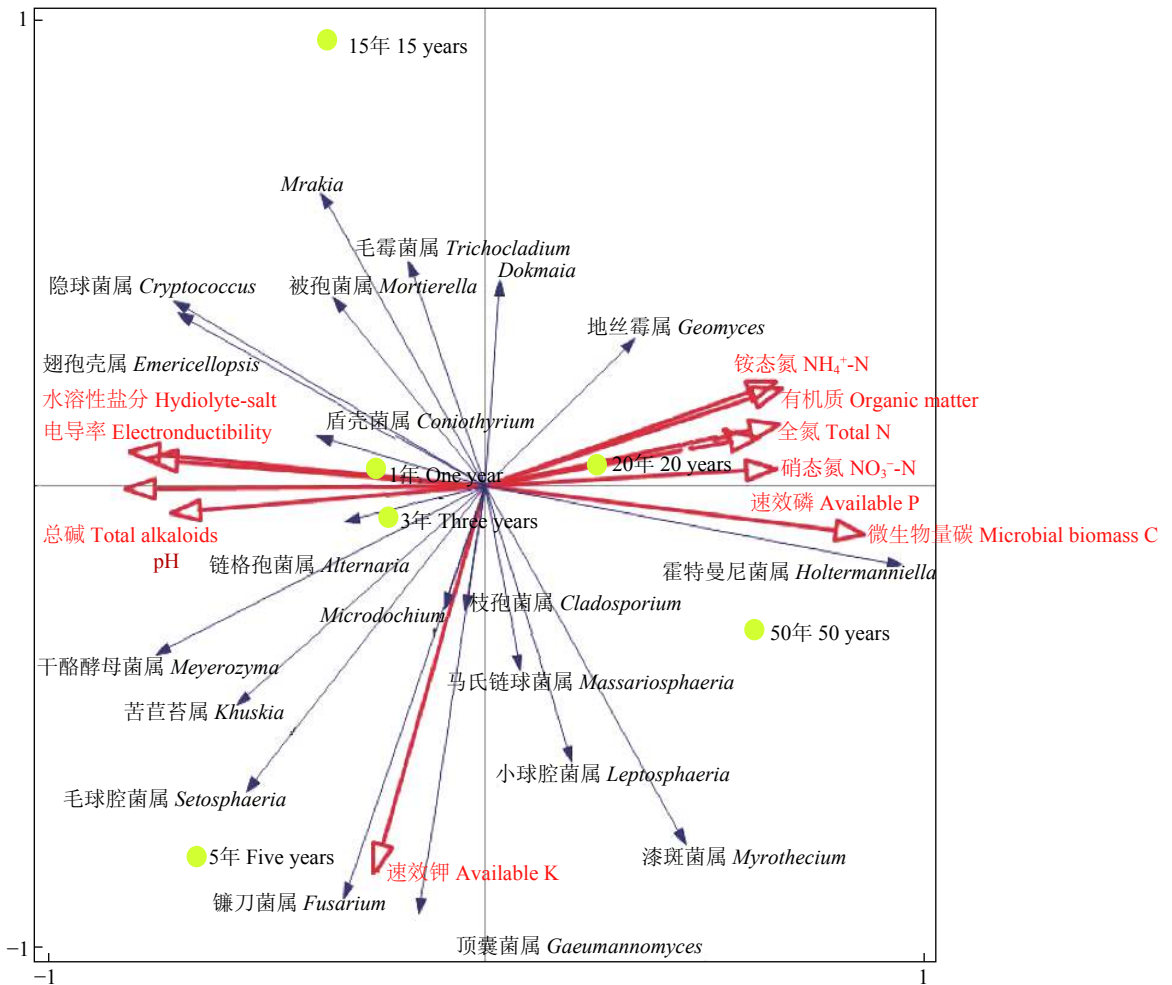


图 4 不同种稻年限土壤真菌群落与环境因子的冗余分析

Fig. 4 Redundancy analyses of fungal communities and environmental factors of soda saline-alkali soil with different rice planting year

量与霍特曼尼菌属数量呈正相关,说明霍特曼尼菌属受土壤微生物量碳影响很大。土壤 pH、电导率、总碱度、水溶性盐分总量以及速效钾含量对大多数真菌菌属的影响相对比较显著,说明土壤碱化程度明显影响了真菌菌属多样性。

3 讨论与结论

本研究发现,种稻年限显著影响土壤理化性质和真菌群落多样性,pH、电导率、水溶性盐分总量、总碱度、有机质含量和微生物量碳含量等均随种稻年限延长有明显变化。有机质、微生物量碳和其他养分含量的变化,可能与种稻期间为提高作物产量施用的有机肥、无机肥和田间稻秆残留等有一定关系。土壤理化性质的变化可以改善土壤质量,影响土壤微生物的生存环境,从而改变真菌群落的结构。

土壤 pH、电导率、总碱度及水溶性盐分总量均可以反映土壤的碱化情况^[17-18]。本研究表明,随种稻年限增加,土壤 pH、电导率、总碱度以及水溶性盐分总量均显著降低,可能是淹水状态导致耕层土

壤的盐分向下渗透,使酸碱度发生变化,同时也影响了电导率、总碱度以及水溶性盐分总量等。种稻 50 年时,苏打盐碱土的 pH 降低到 8.27,有研究发现种稻 2 000 年时土壤 pH 从 8.8 降低到 5.6^[19],虽然本研究的种稻年限有限,但变化趋势却一致。有研究表明,酸性红壤和湖泊围垦种稻 30~50 年,便可形成高度熟化的水稻土^[20-21]。本研究发现种稻 5 年时,土壤有机质含量已升高至 21.54 g·kg⁻¹,说明已形成“熟化耕层”^[22]。

目前关于种稻年限影响苏打盐碱土土壤养分及酶活性的研究较广泛^[23-24],但种稻年限影响苏打盐碱土真菌群落结构变化的研究鲜有报道。随种稻年限增加,土壤中真菌的种类和相对丰度都发生了一定变化,这可能是种植水稻后土壤原有的结构和养分等发生了变化,也可能是水稻根系分泌物对某些真菌具有抑制^[25]或促进^[26]的作用。通过平板稀释法研究不同种稻年限苏打盐碱土的真菌数量,发现种稻年限短的土壤中可培养的真菌数量极少,远不如细菌与放线菌,但随着种稻年限增加,真菌数量

明显增多^[27]。本研究鉴定所得到的优势菌门为子囊菌门, 可能是淹水嫌气条件更适合其生长繁殖^[28]。全世界发现的子囊菌门有 32 267 个种, 是真菌中种类最多的一个类群, 约占 1/3。Al-Sadi 等^[29]认为, 子囊菌门占据比例最大, 主要是因为子囊菌可以产生大量的无性孢子, 从而快速生长。有研究认为, 子囊菌和担子菌是土壤中重要的真菌分解者, 担子菌能够很好地降解木质纤维素^[30-31]。担子菌门的真菌种类丰富, 具有食用和药用价值, 也有一些是有害真菌, 会使作物产生病害。随种稻年限增加, 担子菌门的相对丰度逐渐增加, 可能与田间枯枝落叶增多, 为担子菌提供了更适宜的生存环境有关。王艳云等^[32]在黄河三角洲盐碱地土壤发现子囊菌门相对丰度最高, 担子菌门次之, 与本研究结果一致。冗余分析表明土壤 pH、电导率、总碱度、水溶性盐分总量和速效钾含量对种稻后苏打盐碱土真菌群落的影响大于其他环境因子, 这与多数研究^[33-35]观点一致。

本研究表明, 种稻年限对苏打盐碱土理化性质有很大影响。种稻年限的增加能够显著降低苏打盐碱土中 pH、电导率、总碱度以及水溶性盐分总量, 减轻土壤碱化程度, 同时提高土壤硝态氮、全氮、有机质和微生物量碳等养分的含量。不同种稻年限土壤理化性质发生了改变, 土壤中真菌所占比例也不相同, 从门水平看, 主要有子囊菌门、接合菌门、担子菌门和未知菌门, 相对丰度均大于 10%, 其中担子菌门的相对丰度随种稻年限增加而增加; 从属水平看, 枝孢菌属、霍特曼尼菌属、马氏链球菌属以及未知菌属为优势菌属, 相对丰度大于 2%, 霍特曼尼菌属在种稻 20 年时才出现, 种稻 50 年处理中所占比例达到了 15.29%。 α 多样性指数分析指出, 真菌群落多样性随种稻年限增加先增加后逐渐减小, 种稻 5 年时真菌多样性指数最大, 真菌群落多样性最高。冗余分析得出土壤 pH、电导率、总碱度、水溶性盐分总量和速效钾含量是影响真菌群落多样性主要的环境因子。

参考文献:

- [1] 汤洁, 卞建民, 李昭明. 基于数字技术的吉林西部水土环境综合研究[M]. 北京: 科学出版社, 2011.
- [2] YU J, WANG Z, MEIXNER F X, et al. Biogeochemical characterizations and reclamation strategies of saline sodic soil in Northeastern China[J]. *Clean (Weinh)*, 2010, 38(11): 1010-1016.
- [3] 赵兰坡, 冯君, 王宇, 等. 松嫩平原盐碱地种稻开发的理论与技术问题[J]. *吉林农业大学学报*, 2012, 34(3): 237-241.
- [4] AHN M Y, ZIMMERMAN A R, COMERFORD N B, et al. Carbon mineralization and labile organic carbon pools in the sandy soils of a North Florida watershed[J]. *Eco-systems*, 2009, 12(4): 672-685.
- [5] MORRIS S J, BLACKWOOD C B. Soil microbiology ecology and biochemistry[M]. Salt Lake: Academic Press, 2015: 273-309.
- [6] NANNIPIERI P, ASCHER J, CECCHERINI M T, et al. Microbial diversity and soil functions[J]. *Eur J Soil Sci*, 2003, 54(4): 655-670.
- [7] JOHANSSON J F, PAUL L R, FINLAY R D. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture[J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2004, 48(1): 1-13.
- [8] O'DONNELL A G, SEASMAN M, MACRAE A, et al. Plants and fertilisers as drivers of change in microbial community structure and function in soils[J]. *Plant Soil*, 2001, 232(1/2): 135-145.
- [9] SINGH B K, NUNAN N, RIDGWAY K P, et al. Relationship between assemblages of mycorrhizal fungi and bacteria on grass roots[J]. *Environ Microbiol*, 2008, 10(2): 534-541.
- [10] HAWKSWORTH D L. Global species numbers of fungi: Are tropical studies and molecular approaches contributing to a more robust estimate?[J]. *Biodivers Conserv*, 2012, 21(9): 2425-2433.
- [11] MARGULIES M, EGHOLM M, ALTMAN W E, et al. Genome sequencing in open microfabricated high-density picoliter reactors[J]. *Nature*, 2005, 437(7057): 376-380.
- [12] 崔振. 云计算在高通量测序数据分析中的应用[J]. *基因组学与应用生物学*, 2014, 33(2): 467-471.
- [13] WIBBERG D, RUPP O, JELONEK L, et al. Improved genome sequence of the phytopathogenic fungus *Rhizoctonia solani* AG1-IB 7/3/14 as established by deep mate-pair sequencing on the MiSeq (Illumina) system[J]. *J Biotechnol*, 2015, 203: 19-21.
- [14] 柴立涛, 耿玉辉, 宋引弟, 等. 施肥对吉林省西部盐碱土水田土壤无机磷组分的影响[J]. *水土保持学报*, 2015, 29(6): 197-201.
- [15] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [16] AMATO K R, YEOMAN C J, KENT A, et al. Habitat degradation impacts black howler monkey (*Alouatta pigra*) gastrointestinal microbiomes[J]. *ISME J*, 2013, 7(7): 1344-1353.
- [17] 牛世全, 龙洋, 李海云, 等. 应用 Illumina MiSeq 高通量测序技术分析河西走廊地区盐碱土壤微生物多样性[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(9): 2067-2078.
- [18] 冯君, 马秀兰, 王宇, 等. 微域内苏打盐碱化草原草甸碱土和草甸盐土土壤剖面特征[J]. *吉林农业大学学报*, 2018, 40(6): 1-8.
- [19] LIU C, DING N, FU Q, et al. The influence of soil properties on the size and structure of bacterial and fungal communities along a paddy soil chronosequence[J]. *Eur J Soil Biol*, 2016, 76: 9-18.

- [20] CHENG Y Q, YANG L Z, CAO Z H, et al. Chrono-sequential changes of selected pedogenic properties in paddy soils as compared with non-paddy soils[J]. *Geoderma*, 2009, 151(1/2): 31-41.
- [21] LI Z P, ZHANG T L, HAN F X, et al. Changes in soil C and N contents and mineralization across a cultivation chronosequence of paddy fields in subtropical China[J]. *Pedosphere*, 2005, 15(5): 554-562.
- [22] 赵兰坡, 王宇, 冯君, 等. 松嫩平原盐碱地改良利用: 理论与技术[M]. 北京: 科学出版社, 2013.
- [23] 徐晓腾, 赵兰坡. 种稻法对苏打盐碱土改良贡献的研究[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(12): 130-133.
- [24] 王巍巍, 魏春雁, 张之鑫, 等. 不同种稻年限盐碱地水田表层土壤酶活性变化及其与土壤养分关系[J]. *东北农业科学*, 2016, 41(4): 43-48.
- [25] KONG C, XU X, ZHOU B, et al. Two compounds from allelopathic rice accession and their inhibitory activity on weeds and fungal pathogens[J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(8): 1123-1128.
- [26] BACILIO-JIMENEZ M, AGUILAR-FLORES S, VENTURA-ZAPATA E, et al. Chemical characterization of root exudates from rice (*Oryza sativa*) and their effects on the chemotactic response of endophytic bacteria[J]. *Plant Soil*, 2003, 249(2): 271-277.
- [27] 李忠和. 吉林西部稻田土壤微生物及酶活性对碳变化响应机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2014.
- [28] 陈丹梅, 袁玲, 黄建国, 等. 长期施肥对南方典型水稻土养分含量及真菌群落的影响[J]. *作物学报*, 2017, 43(2): 286-295.
- [29] AL-SADI A M, AL-MAZROUI S S, PHILLIPS A J L. Evaluation of culture-based techniques and 454 pyrosequencing for the analysis of fungal diversity in potting media and organic fertilizers[J]. *J Appl Microbiol*, 2015, 119(2): 500-509.
- [30] YELLE D J, RALPH J, LU F C, et al. Evidence for cleavage of lignin by a brown rot basidiomycete[J]. *Environ Microbiol*, 2008, 10(7): 1844-1849.
- [31] FREY S D, KNORR M, PARRENT J L, et al. Chronic nitrogen enrichment affects the structure and function of the soil microbial community in temperate hardwood and pine forests[J]. *For Ecol Manage*, 2004, 196(1): 159-171.
- [32] 王艳云, 郭笃发. 黄河三角洲盐碱地土壤真菌多样性[J]. *北方园艺*, 2016(18): 185-189.
- [33] ZHOU J, JIANG X, ZHOU B K, et al. Thirty four years of nitrogen fertilization decreases fungal diversity and alters fungal community composition in black soil in north-east China[J]. *Soil Biol Biochem*, 2016, 95: 135-143.
- [34] 李鹏, 李永春, 史加亮, 等. 水稻秸秆还田时间对土壤真菌群落结构的影响[J]. *生态学报*, 2017, 37(13): 4309-4317.
- [35] 胡芳, 杜虎, 曾馥平, 等. 典型喀斯特峰丛洼地不同植被恢复对土壤养分含量和微生物多样性的影响[J]. *生态学报*, 2018, 38(6): 2170-2179.

【责任编辑 李庆玲, 周志红】