



## 研究报告

## 两种气候条件下不同有机质含量农田黑土真菌群落结构特征

侯萌<sup>1,4</sup> 陈一民<sup>1</sup> 焦晓光<sup>2</sup> 孙波<sup>3</sup> 隋跃宇<sup>\*1</sup>

1 中国科学院东北地理与农业生态研究所 黑龙江 哈尔滨 150081

2 黑龙江大学现代农业与生态环境学院 黑龙江 哈尔滨 150080

3 中国科学院南京土壤研究所 江苏 南京 210008

4 中国科学院大学 北京 100049

**摘要:**【背景】东北黑土土壤肥沃,有机质含量丰富,是我国重要的粮食生产基地,同时也是受气候变化影响的敏感区。土壤微生物对环境因子变化的响应敏感,并且与土壤肥力密切相关,因此,研究环境因子改变对土壤微生物的影响有助于维持农田黑土生产力。【目的】探究有机质含量与气候条件对农田黑土真菌群落结构、多样性的影响,为全球气候变化条件下黑土区农业可持续发展提供重要基础数据和理论依据。【方法】利用黑土空间移位试验,采用 Illumina MiSeq 测序技术对农田黑土真菌种类进行预测,并对其进行多样性和群落结构分析。【结果】两种气候条件下不同有机质含量农田黑土真菌种类均较丰富,土壤有机质含量对真菌多样性指数的影响不大,气候条件和施肥对真菌多样性的影响较大。在已知的真菌群落中,5种不同有机质农田黑土的优势菌门均为子囊菌门(*Ascomycota*)、担子菌门(*Basidiomycota*)和接合菌门(*Zygomycota*),占总序列的 92.5%。在气候较冷条件下,OTU 数量、Chao1 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数均出现不同程度的降低;施肥也会降低各有机质含量农田黑土中真菌物种数量和多样性,但是降低幅度随有机质含量升高而逐渐减小。气候因子、有机质含量、全氮、施肥和 pH 是影响不同有机质含量农田黑土中真菌群落结构发生变化的主要因素。【结论】有机质含量、施肥和气候均一定程度上改变了农田黑土中真菌群落多样性和群落结构。气候条件和施肥对农田黑土真菌群落结构影响较大,而有机质含量对其影响较小,但前两者的影响会随土壤有机质含量的增加而呈减弱趋势。这些影响在子囊菌门群落结构中表现明显。

**关键词:** 农田黑土, 土壤真菌, 群落结构, 气候条件, 高通量测序

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (41530856); Natural Science Funds for Outstanding Youth of Heilongjiang Province (JC2018011); Strategic Priority Research Program of Chinese Academy of Sciences (XDA23060503)

**\*Corresponding author:** Tel: 86-451-86603115; E-mail: suiyy@iga.ac.cn

**Received:** 17-07-2020; **Accepted:** 26-08-2020; **Published online:** 28-08-2020

**基金项目:** 国家自然科学基金重点项目(41530856); 黑龙江省杰出青年科学基金(JC2018011); 中国科学院战略性先导科技专项(XDA23060503)

**\*通信作者:** Tel: 0451-86603115; E-mail: suiyy@iga.ac.cn

**收稿日期:** 2020-07-17; **接受日期:** 2020-08-26; **网络首发日期:** 2020-08-28

## Characteristics of fungal community structure in arable mollisols with different organic matter content under two climatic conditions

HOU Meng<sup>1,4</sup> CHEN Yi-Min<sup>1</sup> JIAO Xiao-Guang<sup>2</sup> SUN Bo<sup>3</sup> SUI Yue-Yu<sup>\*1</sup>

1 Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin, Heilongjiang 150081, China

2 College of Modern Agriculture and Ecological Environment, Heilongjiang University, Harbin, Heilongjiang 150080, China

3 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing, Jiangsu 210008, China

4 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** [Background] Mollisols in Northeast China are rich in organic matter and fertile soil, which become an important food production base in China and a sensitive area affected by climate change. Soil microorganism is sensitive to the changes of environmental factors and closely related to the soil fertility. Therefore, it is helpful to maintain the productivity of mollisols by studying the influence of environmental factors on soil microorganism. [Objective] Explore the effects of organic matter contents and climatic conditions on fungal community structure and diversity in arable mollisols, and provide important basic data and theoretical basis for agricultural sustainable development in mollisols regions under global climate change. [Methods] Long-term soil spatial transplant experiments were used in the present study and the species of fungi in mollisols, and the diversity and community structure of fungi were analyzed by Illumina MiSeq sequencing. [Results] Under the two climatic conditions, there were abundant fungal species in arable mollisols with different organic matter contents. The content of soil organic matter had little effect on fungal diversity, while the climate conditions and fertilizer application largely affected the fungal diversity. The dominant fungi phyla in mollisols with five organic matter contents were *Ascomycota*, *Basidiomycota*, and *Zygomycota*, accounting for 92.5% of all the sequences. Under the colder climate, OTU numbers, Chao1, Shannon and Simpson indices all decreased in varying degrees; fertilization also reduced the number and diversity of fungi in arable mollisols, but the decreasing rate decreased as increase of organic matter contents. Climate conditions, organic matter contents, total nitrogen, fertilization and pH were the main factors that driving the changes of fungal community structure in arable mollisols with different organic matter contents. [Conclusion] Organic matter contents, fertilization and climate conditions changed the composition, diversity, and structure of the fungal community in arable mollisols. Climate conditions and fertilization had a greater impact on the fungal community structure of mollisols with different contents, while organic matter contents had a smaller effect on it. However, the effects of the first two factors would weaken with the increase of soil organic matter contents, which was obvious in *Ascomycota*.

**Keywords:** Arable mollisols, Soil fungi, Community structure, Climatic conditions, High-throughput sequencing

土壤真菌作为土壤生态系统的重要组成部分,参与土壤中的有机质分解、腐殖质形成及土壤养分循环等生物化学过程<sup>[1-2]</sup>,土壤真菌群落结构变化是生态系统恢复的关键性指标<sup>[3]</sup>。土壤真菌可利用的能源主要来自土壤中的动植物残体、植物根系及其分泌物和土壤有机质<sup>[4-6]</sup>。有研究表明,一些农业措施会对真菌群落结构和多样性产生影响,其中施肥

会改变土壤真菌群落结构<sup>[7]</sup>,并降低其多样性。王小玲等<sup>[8]</sup>提出免耕覆盖配施有机肥提高宁夏南部地区土壤真菌群落多样性。陈祖静等<sup>[9]</sup>对桉树人工林进行短期施肥处理发现,施肥组与不施肥组真菌群落结构差异显著,短期施肥后土壤真菌 $\alpha$ 多样性和丰富度指数均降低。真菌群落结构与土壤养分的有效性密切相关<sup>[10]</sup>。王蕊等<sup>[11]</sup>以东北丘陵区土壤为研

究对象,发现土壤总氮、速效磷和硝态氮是驱动其真菌群落变化的关键因子。同时,关于真菌群落受气候变化的影响也受到广泛关注,有研究表明,气候变化带来的升温 and 干燥可能会影响土壤真菌的群落组成<sup>[12]</sup>,升温明显提高了土壤真菌的活性,增加了丰富度<sup>[13]</sup>。Looby 等<sup>[14]</sup>也认为气候变暖会促进一些稀有真菌的生长,使群落多样性增加,并且也会通过直接作用和间接作用改变真菌的群落结构。但有学者提出升温并不影响土壤真菌的丰富度<sup>[15]</sup>。

东北黑土有机质含量变化较大,范围在 6.5–128.9 g/kg 之间<sup>[16]</sup>,有机质含量的不同影响土壤真菌群落结构<sup>[17]</sup>;同时,东北黑土区地处中高纬度,是粮食生产受气候变化影响的敏感区,气候条件的改变也会导致土壤真菌群落结构改变。然而目前关于土壤真菌群落的研究大多数集中在气候条件、施肥方式、有机质含量等单一因素对土壤微生物影响的领域<sup>[18–21]</sup>,对不同有机质含量农田黑土真菌群落对不同气候条件的响应鲜有报道。因此,本研究在东北黑土带上选取不同有机质含量的农田黑土,通过空间移位的方法分别将其放置在两种气候条件下,设置施肥与不施肥两种施肥水平,用以研究气候-有机质含量-施肥对土壤真菌群落结构的综合影响,以明确有机质含量和气候对土壤微生物群落的影响,对于实现全球气候变化条件下农业生态系统的可持续发展具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

试验地分别位于黑龙江省海伦市中国科学院海伦农业生态实验站(N47°27', E126°56')和吉林省德惠市黑土研究基地(N44°12', E125°33')。黑龙江省海伦市属寒温带大陆性季风气候。冬季寒冷干燥,夏季温热多雨,年平均气温 1.5 °C,年均降水量 500–600 mm 左右,年有效积温 2 400–2 600 °C,无霜期 110–125 d。吉林省德惠市属于中温带大陆性季风气候,春季多风干旱,夏季炎热多雨,年平均气温 4.5 °C,降水量 550–600 mm 左右,年有效

积温 2 800 °C 左右,无霜期 135–140 d。

### 1.2 材料设计

试验依托于 2004 年秋季建立的“黑土土壤生产力空间移位长期定位试验”,该试验在海伦和德惠分别建立 30 个试验小区(1.2×1.4×1.0 m),小区之间用 20 cm 厚砖墙分隔,砖墙以水泥覆盖,内侧贴防水布。在黑土带上选取 5 块不同有机质含量的农田黑土,分别为 SOM1.7 (16.6 g/kg)、SOM3 (32.0 g/kg)、SOM5 (50.6 g/kg)、SOM6 (58.8 g/kg) 和 SOM11 (108.9 g/kg),土壤基础理化性质见表 1,以土壤剖面分层采集,按原土层层次分别置入小区中。试验设施肥(NPK)和不施肥(CK)两个组别,每个处理 3 次重复。

试验地种植作物为玉米,采用相同的种植与管理模式。氮肥为尿素,施入量(以 N 计)为 150 kg/hm<sup>2</sup>,60%作基肥,40%在玉米大喇叭口期追施;磷酸二铵磷为磷肥,施入量(以 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 计)为 75 kg/hm<sup>2</sup>;氯化钾为钾肥,施入量(以 K<sub>2</sub>O 计)为 60 kg/hm<sup>2</sup>。磷肥、钾肥全部作为基肥施入<sup>[22]</sup>。

### 1.3 主要试剂和仪器

Fast DNA Spin Kit for Soil, MP Biomedicals 公司; DNA 聚合酶,北京全式金生物技术有限公司; DNA 纯化试剂盒, Thermo 公司; TS1F/ITS2R 引物,上海美吉生物公司。PCR 仪, AB 公司; Qubit 3.0 荧

表 1 土壤基本理化性质

Table 1 Initial soil properties

Item	SOM1.7	SOM3	SOM5	SOM6	SOM11
有机质	16.6	32.0	50.6	58.8	108.9
Soil organic matter (g/kg)					
全氮	0.8	1.7	2.6	2.9	4.9
Total nitrogen (g/kg)					
全磷	0.6	0.8	1.6	1.9	2.4
Total phosphorous (g/kg)					
全钾	12.6	13.0	13.8	14.4	15.6
Total potassium (g/kg)					
pH	6.63	5.95	6.1	5.42	6.34

光计, Thermo 公司; 测序仪, Illumina 公司。

#### 1.4 样品采集与分析

土壤样品采集于 2017 年玉米收获后(德惠 9 月 28 日, 日均温 7.1 °C, 晴; 海伦 10 月 8 号, 日均温 15.4 °C, 晴)取样。用土钻采用“S”型均匀采集 0–20 cm 土样, 每个小区取 5–7 个点混成一个样。混合的土样装入封口聚乙烯袋, 置于保鲜盒中带回实验室进行处理。取回的土样分成两份: 一份立即过 2 mm 筛, 在–80 °C 冰箱保存, 用于土壤总 DNA 的提取; 另一份经风干后过 1 mm 和 0.25 mm 筛, 供土壤 pH、有机碳、全氮、全磷的测定用。

土壤理化性质: 采用常规分析法测定, pH 以 2.5:1 的水土比用 pH 计测定; 有机质、全氮测定用元素分析仪; 全磷采用酸溶-钼锑抗比色法<sup>[23]</sup>。

使用 Fast DNA Spin Kit for Soil 提取土壤总 DNA, 选取引物 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAG GAAGTAA-3')和 ITS2R (5'-GCTGCGTTCTTCATC GATGC-3')对真菌 ITS rRNA 基因序列进行扩增。PCR 反应体系: 5×FastPfu Buffer 4 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μL, 引物 ITS1F (5 mmol/L) 0.8 μL, 引物 ITS2R (5 mmol/L) 0.8 μL, FastPfu Polymerase (2.5 U/μL) 0.4 μL, BSA 0.2 μL, Template DNA 10 ng, 补 ddH<sub>2</sub>O 至 20 μL。PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。PCR 扩增产物采用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 使用 DNA 纯化试剂盒进行纯化。纯化后的 PCR 扩增产物等量混合后提交至上海美吉公司进行 Illumina MiSeq 序列分析。原始序列上传至 SRA 数据库(SUB7928466)。

#### 1.5 数据分析

根据 Barcode 序列和 PCR 扩增产物序列从原始序列中分出各样品数据, 对其进行拼接及质控过滤, 获得优化序列。对优化序列提取非重复序列, 便于降低分析中间过程冗余计算量(<http://drive5.com/usearch/manual/dereplication.html>), 去除没有重复的单序列(<http://drive5.com/usearch/manual/singletons.html>), 按照 97% 相似性对非重复序列(不

含单序列)进行 OTU 聚类。

测序数据采用 QIIME 1.9 软件, 对数据进行 OTU 聚类分析、物种分类学分析、 $\alpha$  多样性分析、 $\beta$  多样性分析及 Redundancy analysis (RDA)/Canonical correspondence analysis (CCA) 分析。

采用 Excel 2013 对所有基础数据进行整理, 利用 SPSS 20.0 进行差异显著性统计分析, 采用 Sigmaplot 12.5 软件和 R 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 气候-施肥-有机质对农田黑土真菌群落结构的影响

利用 Illumina MiSeq 测序平台对 60 个样品进行了高通量测序分析, 得到的原始序列共 386 万多条序列, 经 Unite (Release 6.0 <http://unite.ut.ee/index.php>) 真菌数据库比对, 其中 98.70% 的序列为真菌序列, 每个样品中平均有 64 355 条序列。对两种气候条件下不同处理土壤真菌群落组成分析发现, 在门水平上, 共检测到 7 个真菌门。如图 1 所示, 子囊菌门 (*Ascomycota*)、担子菌门 (*Basidiomycota*) 和接合菌门 (*Zygomycota*) 属于优势菌门, 相对丰度较高, 共占所有序列的 92.48%; 在 60 个土壤样品中, 它们的相对丰度分别为 14.49%–74.37%、2.16%–83.04% 和 1.05%–31.06%。子囊菌门的相对丰度随有机质含量无明显变化规律, 同时对气候响应在不同有机质农田黑土中不同(图 2A), 气候较冷降低 SOM1.7 和 SOM5 土壤子囊菌门的相对丰度, 其余 3 种土壤相对丰度增加。施肥仅增加了 SOM5 中子囊菌门的相对丰度, 气候较暖条件下增加幅度为 10%, 气候较冷条件下增加幅度为 11%; 其余肥力水平下施肥处理均降低土壤中子囊菌门的相对丰度, 降低幅度为 2.89%–31.89%, 而且降低幅度随土壤有机质含量升高而减小。担子菌门仅在不施肥处理中随土壤有机质含量先增加, 在 SOM5 中达到最高, 之后随有机质含量升高而降低。气候变化对担子菌门的丰度无显著影响 ( $P>0.05$ ), 而施肥处理显著增加各有机质含量农田黑土中担子菌门的相对丰度, 在 SOM1.7

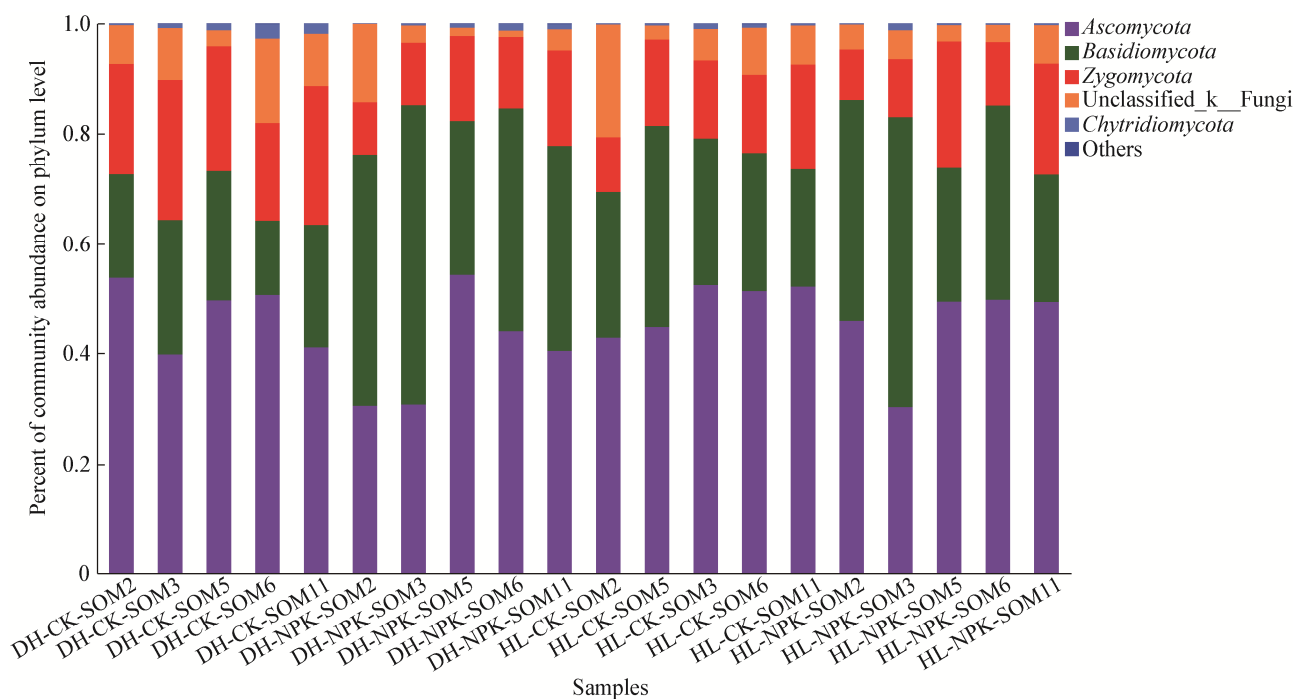


图1 真菌门水平相对丰度

Figure 1 The relative abundances of fungal phyla

和 SOM3 中增加幅度达到最高。接合菌门的相对丰度随有机质含量的增加而增加,气候变冷和施肥处理均降低土壤中接合菌门的相对丰度,施肥所带来的降低幅度在气候较冷条件下不明显,甚至在 SOM5 和 SOM11 中会使接合菌门的丰度略有增加,但在气候较暖条件下,施肥在各有机质含量农田黑土中均会显著降低( $P<0.05$ )接合菌门的相对丰度。

选取相对丰度 $>0.5\%$  OTU,得到35个优势OTU(图2),包括 OTU1261 (*Zygomycota* 门 *Norank* 纲 *Mortierellales* 目)、OTU572 (*Basidiomycota* 门 *Tremellomycetes* 纲 *Cystofilobasidiales* 目)、OTU1071 (*Basidiomycota* 门 *Tremellomycetes* 纲 *Cystofilobasidiales* 目)、和 OTU1146 (*Zygomycota* 门 *Tremellomycetes* 纲 *Tremellales* 目),它们的相对丰度最高可达10%以上,分别为3.29%–14.86%、0.33%–20.02%、1.99%–20.65%和0.49%–15.73%。经比对后发现,它们属于担子菌门(*Basidiomycota*)和接合菌门

(*Zygomycota*)两大优势菌门。选取总丰度前50的OTU进行聚类分析,由图3可见,相同施肥处理、相同气候条件下各有机质含量农田黑土真菌OTU组成较接近,可聚类到一起,但是相同有机质含量并未聚到一起。说明气候条件、施肥对真菌OTU组成会造成较大影响,但有机质含量造成的影响较小。

## 2.2 气候-有机质-施肥对农田黑土真菌多样性的影响

如表2所示,在97%相似水平下进行OTU统计分析,每个样品OTU数在259–761个之间,每个样品平均获得540个OTU。真菌测序覆盖度均达到99%以上,证明测序结果能较好地反映不同有机质含量农田黑土中真菌群落多样性的真实情况。两种气候条件、不同施肥处理下,5个有机质含量农田黑土中OTU数量、Shannon指数、Simpson指数和Chao1指数分别为355–689、2.71–3.88、0.049–0.201和485–830。总体来看,有机质含量对

多样性指数影响不大,但施肥和气候对多样性指数产生了较大的影响。气候较冷条件下,OTU 数量、Chao1 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数均出现不同程度的降低,说明气候变冷不仅会减少农田黑

土中真菌物种数量,还会降低其多样性。与气候较冷相似,施肥也会降低各有机质含量农田黑土中真菌物种数量和多样性,但是降低幅度随有机质含量升高而逐渐减小。

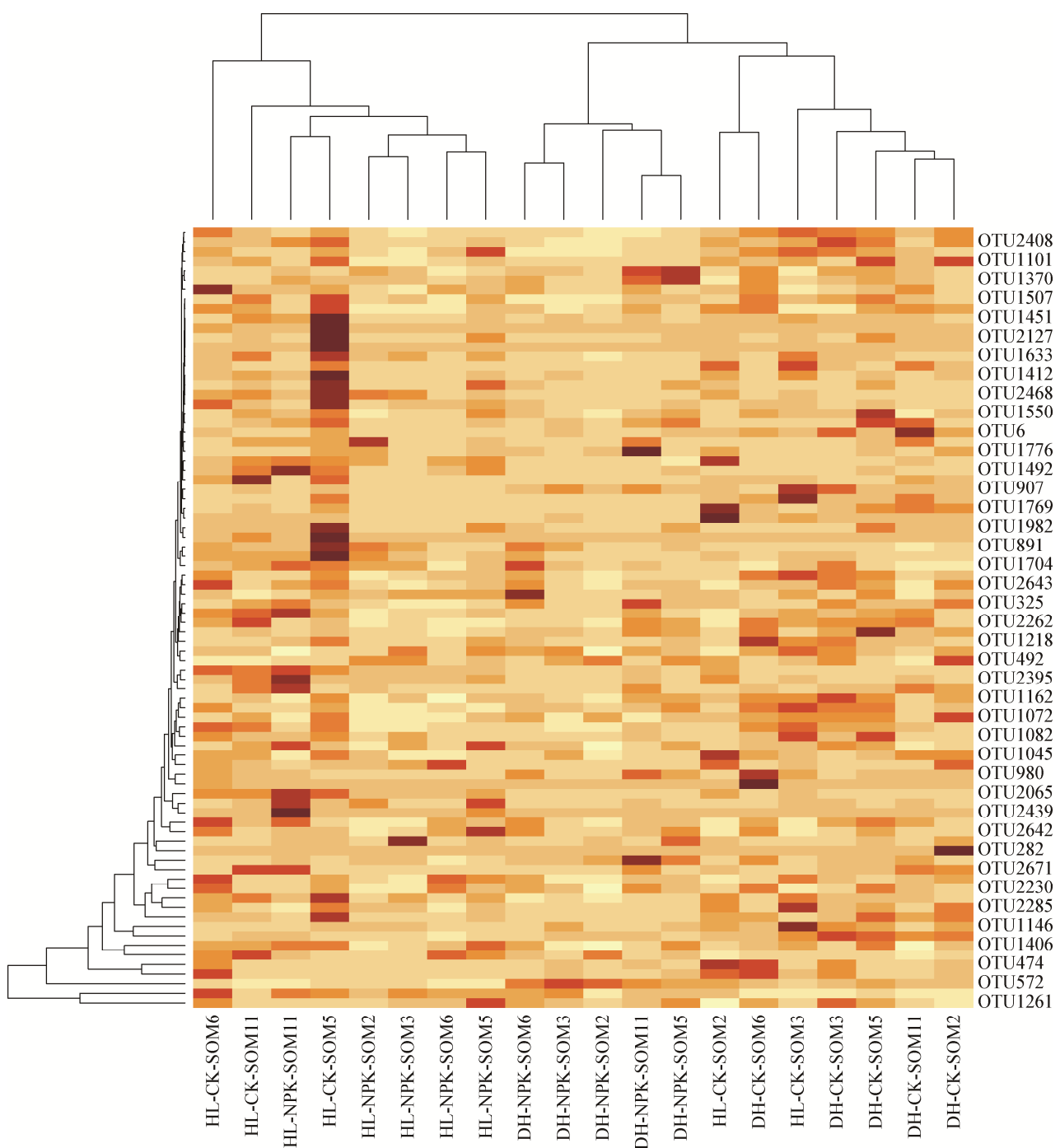


图 2 真菌 OTU 水平 Heatmap 图与聚类分析  
Figure 2 Heatmap and cluster analysis of fungal OTU

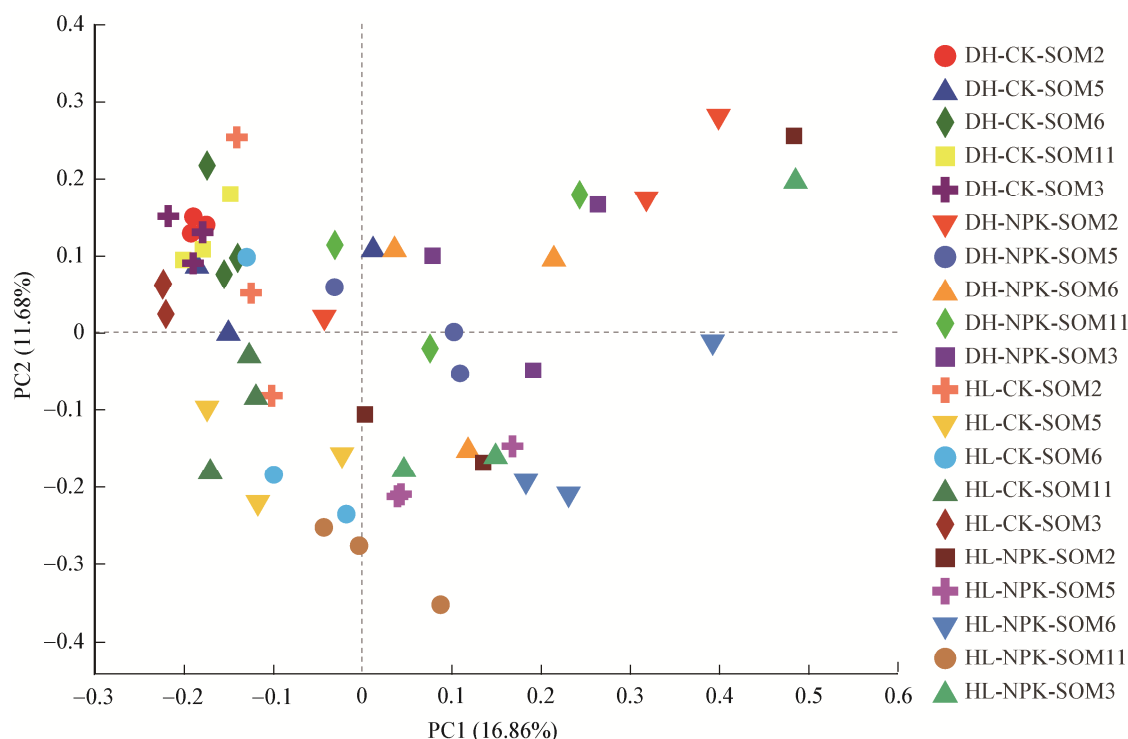


图3 真菌群落结构 PCoA 分析图

Figure 3 PCoA analysis of fungal communities

为了进一步分析气候-有机质-施肥对真菌群落结构的影响,将测序数据按最小序列数抽平后进行 PCoA 分析(图 3)。基于 Bray-curtis 距离,从 PCoA 图谱发现,沿 PC1 轴方向,施肥与不施肥处理明显分开;沿 PC2 轴方向,气候较冷与气候较暖条件也明显分开。但是相同气候条件下,相同施肥处理中各有机质含量农田黑土之间无明显区分。PCoA 分析结果进一步表明,施肥和气候对不同有机质含量农田黑土中真菌群落结构的影响较大,而有机质含量的影响较小。

采用 CCA 分析进一步对两种环境条件、两种施肥处理下不同有机质含量农田黑土中真菌群落结构变化进行了分析,并明确了影响真菌群落结构变化的环境因子(图 4)。与 PCoA 分析类似,CCA 分析图谱显示施肥与不施肥处理沿 CCA1 方向发生分异,变异解释率为 5.28%;不同气候条件真菌群落结构沿 CCA2 方向发生分异,变异解释率为

3.65%,总变异解释率为 8.93%。RDA 分析结果表明,气候因子( $r^2=0.5196$ ,  $P=0.001$ )、有机质含量( $r^2=0.1983$ ,  $P=0.001$ )、全氮( $r^2=0.1997$ ,  $P=0.001$ )、施肥( $r^2=0.6878$ ,  $P=0.001$ )和 pH ( $r^2=0.4942$ ,  $P=0.001$ )是影响不同有机质含量农田黑土中真菌群落结构发生变化的主要因素。综上所述,气候、有机质含量、施肥均会对土壤真菌群落结构产生影响。

### 3 讨论

本研究发现气候较暖土壤农田黑土多样性略高于气候较冷条件,这主要是由于温度升高加速有机质分解<sup>[24]</sup>,为真菌生长繁殖提供充足碳源,这与 Treseder 等<sup>[25]</sup>研究提出温度升高提高土壤真菌多样性结论相似。然而本文土壤真菌多样性随有机质含量增加无显著变化,这与 Liu 等<sup>[26]</sup>研究提出的有机质含量是我国东北黑区真菌多样性主导因素不一致,原因可能是本研究仅选取 5 个不同含量的有机

表 2 真菌 OTU 数量与多样性指数表

Table 2 Fungal OTU numbers and diversity index

Treatment	OTU number	Shannon index	Simpson index	Chao1 index	Coverage (%)
DH-CK-SOM1.7	635±36	3.87±0.15	0.050±0.015	766±78	99.77
DH-NPK-SOM1.7	424±72	2.71±0.49	0.191±0.083	520±58	99.82
DH-CK-SOM3	689±29	3.88±0.15	0.059±0.019	830±53	99.78
DH-NPK-SOM3	506±45	3.15±0.34	0.117±0.055	642±48	99.80
DH-CK-SOM5	658±56	3.86±0.23	0.049±0.012	808±78	99.76
DH-NPK-SOM5	501±74	3.38±0.31	0.087±0.040	628±88	99.81
DH-CK-SOM6	658±101	3.64±0.79	0.086±0.085	803±137	99.76
DH-NPK-SOM6	511±52	3.4±0.27	0.078±0.014	650±59	99.79
DH-CK-SOM11	628±107	3.84±0.28	0.052±0.016	768±125	99.71
DH-NPK-SOM11	573±65	3.73±0.3	0.059±0.020	720±14	99.79
HL-CK-SOM1.7	544±116	3.38±1	0.123±0.134	662±126	99.80
HL-NPK-SOM1.7	420±146	3.06±1.26	0.201±0.258	514±152	99.82
HL-CK-SOM3	573±18	3.89±0.19	0.051±0.010	669±5	99.80
HL-NPK-SOM3	404±69	2.91±0.53	0.140±0.083	545±65	99.79
HL-CK-SOM5	578±68	3.36±0.59	0.112±0.088	720±62	99.80
HL-NPK-SOM5	489±40	3.53±0.26	0.068±0.012	619±47	99.79
HL-CK-SOM6	585±38	3.22±0.67	0.147±0.125	710±16	99.81
HL-NPK-SOM6	355±52	2.99±0.35	0.115±0.064	485±104	99.81
HL-CK-SOM11	591±76	3.58±0.49	0.105±0.060	729±48	99.74
HL-NPK-SOM11	491±77	3.58±0.35	0.075±0.034	602±126	99.81

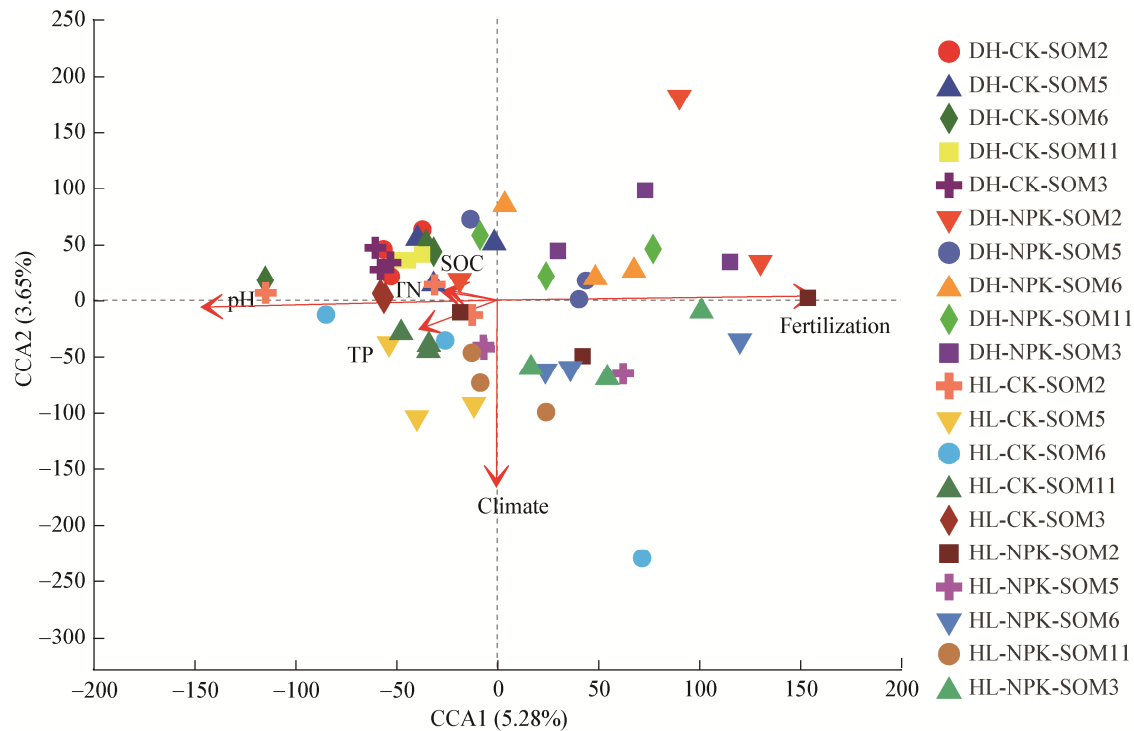


图 4 真菌群落结构 CCA 分析图

Figure 4 CCA analysis of fungal communities



质农田黑土,并不能很好地体现二者之间的关系;同时,在海伦和德惠实验站,不同有机质土壤自然环境和人工管理均保持一致,可能会导致有机质对土壤真菌多样性影响被遮蔽。本研究中真菌多样性与施肥处理间呈显著负相关( $P<0.05$ ),可能主要由氮肥施入引起<sup>[8,27]</sup>。有报道称,氮肥施入造成局部氮素浓度过高,导致一部分真菌死亡<sup>[28]</sup>;同时,氮肥施入导致土壤 pH 降低,共同造成氮肥施入降低土壤总体真菌的多样性<sup>[29]</sup>。但本研究中有机质含量高的农田黑土施肥后真菌多样性降低幅度变小,是因为土壤有机质含量的升高<sup>[30]</sup>导致土壤缓冲能力变强,施肥造成的负面影响被减弱。

不同有机质含量农田黑土在两种施肥处理并置于不同气候条件下,优势真菌菌门均为子囊菌门、担子菌门和接合菌门,这与其他关于黑土优势真菌研究相一致<sup>[31]</sup>。气候条件、有机质含量和施肥处理均对土壤真菌相对丰度产生一定的影响,造成的原因可能是真菌的繁殖能力较细菌等来说较低,导致其稳定性低、受干扰程度大。轻微的气候变化对子囊菌门和不施肥处理下担子菌门的相对丰度影响不大,对施肥处理下担子菌门和接合菌门相对丰度产生一定影响。原因可能是:子囊菌门真菌的孢子一般都具有较厚的细胞壁,造成其对轻微的气候变化无明显响应<sup>[25]</sup>;担子菌门对难分解碳的利用能力较强,而且对低养分环境的适应能力也比较强<sup>[32]</sup>;接合菌门主要是在富营养型环境中生长<sup>[33]</sup>,气候较冷会降低其相对丰度。施肥导致子囊菌门和接合菌门相对丰度降低、担子菌门相对丰度升高。可能是由于黑土本身供氮能力高,施入氮肥后造成局部氮素浓度偏高,而这样的环境不利于子囊菌门和接合菌门类真菌的生长<sup>[34]</sup>;还有一种可能是氮肥施入刺激植物对氮素的吸收作用,与其发生竞争作用,局部形成氮素缺乏的环境也不利于这两种菌门真菌的生长。然而担子菌门对有机质中碳利用能力有限,施肥增加了土壤中养分的有效性,但随有机质含量升高,施肥对担子菌门的增加效果也减弱。

本研究中不同有机质含量对农田黑土中子囊菌门和担子菌门相对丰度产生一定的影响,但有机质与二者均无明显相关关系,与 Liu 等<sup>[26]</sup>的研究结果不一致,这可能与土壤有机质结构有关<sup>[35]</sup>,而且本研究中 5 种不同有机质含量农田黑土种植作物均为玉米,植被选择作用可能减弱了土壤有机质含量对二者的影响<sup>[36]</sup>。

由图 3 可知,气候-有机质-施肥对农田黑土真菌群落结构产生了一定的影响。与本研究相似,Looby 等<sup>[14]</sup>提出气候条件是森林土壤真菌群落结构差异的主要驱动因子,气候对真菌群落的影响可能主要是通过改变碳源可利用性来实现<sup>[24]</sup>。陈文婷等<sup>[37]</sup>研究表明不同有机质含量农田黑土有机碳组分存在较大差异,使真菌群类间的碳源分配不同,导致真菌群落差异<sup>[38]</sup>。施肥对真菌群落影响促进担子菌门等真菌的生长,抑制子囊菌门和接合菌门等真菌的繁殖增长。同时本研究发现群落结构受土壤 pH 显著影响,但在有些研究中指出 pH 对真菌群落结构的影响要远远弱于细菌<sup>[34]</sup>。原因可能是本研究中消除了部分种植作物类型、施肥量差异和一些不稳定气候因子等带来的变异,使 pH 对真菌群落结构的影响凸显出来。综上所述,气候因素、施肥和土壤自身理化性质均会改变真菌群落结构,但其之间的交互作用需要进一步深入研究。

## 4 结论

(1) 在门和 OTU 水平上,有机质含量、施肥和气候影响农田黑土中真菌群落组成。两种气候条件下不同处理农田黑土土壤真菌群落的优势菌门保持一致,均为子囊菌门(*Ascomycota*)、担子菌门(*Basidiomycota*)和接合菌门(*Zygomycota*)。

(2) 气候条件、施肥和有机质含量均在一定程度上改变了农田黑土真菌的多样性。但有机质含量对多样性指数影响不大,气候变冷和施肥使多样性指数均出现不同程度的降低。

(3) CCA 分析表明,气候、pH、SOC、施肥与农田黑土真菌多样性与群落结构密切相关。

## REFERENCES

- [1] Bridge P, Spooner B. Soil fungi: diversity and detection[J]. *Plant and Soil*, 2001, 232(1/2): 147-154
- [2] Varma A, Buscot F. *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions*[M]. Berlin: Springer, 2005
- [3] Siciliano SD, Palmer AS, 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
- [4] de Boer W, Folman LB, Summerbell RC, et al. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2005, 29(4): 795-811
- [5] Frey SD, Six J, Elliott ET. Reciprocal transfer of carbon and nitrogen by decomposer fungi at the soil-litter interface[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(7): 1001-1004
- [6] Kramer C, Gleixner G. Variable use of plant- and soil-derived carbon by microorganisms in agricultural soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(11): 3267-3278
- [7] Allison SD, Hanson CA, Treseder KK. Nitrogen fertilization reduces diversity and alters community structure of active fungi in boreal ecosystems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(8): 1878-1887
- [8] Wang XL, Ma K, Fu YZ, et al. Effects of no-tillage, mulching, and organic fertilization on soil fungal community composition and diversity[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(3): 890-898 (in Chinese)  
王小玲, 马琨, 伏云珍, 等. 免耕覆盖及有机肥施用对土壤真菌群落组成及多样性的影响[J]. *应用生态学报*, 2020, 31(3): 890-898
- [9] Chen ZJ, Gao SK, Chen Y, et al. Effects of short-term fertilization on soil fungal community structure and functional group in *Eucalyptus* artificial forest[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(11): 3813-3821 (in Chinese)  
陈祖静, 高尚坤, 陈园, 等. 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[J]. *生态学报*, 2020, 40(11): 3813-3821
- [10] Sui YY, Jiao XG, Gao CS, et al. The relationship among organic matter content and soil microbial biomass and soil enzyme activities[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2009, 40(5): 1036-1039 (in Chinese)  
隋跃宇, 焦晓光, 高崇生, 等. 土壤有机质含量与土壤微生物量及土壤酶活性关系的研究[J]. *土壤通报*, 2009, 40(5): 1036-1039
- [11] Wang R, Zhu K, Li G, et al. Metabolic characteristics of responses of soil fungi to land-use changes in the hilly regions of northeast China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(9): 1925-1932 (in Chinese)  
王蕊, 朱珂, 李刚, 等. 东北丘陵区林地、耕地和草地土壤真菌群落代谢特征[J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(9): 1925-1932
- [12] Castaño C, Lindahl BD, Alday JG, et al. Soil microclimate changes affect soil fungal communities in a Mediterranean pine forest[J]. *New Phytologist*, 2018, 220(4): 1211-1221
- [13] Zhang WJ, Xu Q, Wang XK, et al. Impacts of experimental atmospheric warming on soil microbial community structure in a tallgrass prairie[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(8): 1742-1747
- [14] Looby CI, Maltz MR, Treseder KK. Belowground responses to elevation in a changing cloud forest[J]. *Ecology and Evolution*, 2016, 6(7): 1996-2009
- [15] Bergner B, Johnstone J, Treseder KK. Experimental warming and burn severity alter soil CO<sub>2</sub> flux and soil functional groups in a recently burned boreal forest[J]. *Global Change Biology*, 2004, 10(12): 1996-2004
- [16] Zhang XY, Sui YY, Zhang XD, et al. Spatial variability of nutrient properties in black soil of northeast China[J]. *Pedosphere*, 2007, 17(1): 19-29
- [17] Liu JJ, Sui YY, Yu ZH, et al. High throughput sequencing analysis of biogeographical distribution of bacterial communities in the black soils of northeast China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70: 113-122
- [18] Ji LF, Ni K, Ma LF, et al. Effect of different fertilizer regimes on the fungal community of acidic tea-garden soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(22): 8158-8166 (in Chinese)  
季凌飞, 倪康, 马立锋, 等. 不同施肥方式对酸性茶园土壤真菌群落的影响[J]. *生态学报*, 2018, 38(22): 8158-8166
- [19] Wang YK, Su HW, Duan YN, et al. Improvement of root development of *Malus hupehensis* Rehd. seedlings and soil fungal diversity under replant condition by three kinds of biofertilizers[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(2): 316-324 (in Chinese)  
王义坤, 苏厚文, 段亚楠, 等. 三种菌肥对连作平邑甜茶根系生长和土壤真菌群落多样性的促进效应[J]. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(2): 316-324
- [20] Zhang BB, Wan XH, Yang JQ, et al. Effects of litters different in quality on soil microbial community structure in *cunninghamia lanceolata* plantation[J/OL]. *Acta Pedologica Sinica*: 1-11[2020-05-26]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/32.1119.P.20200526.1145.004.html> (in Chinese)  
张冰冰, 万晓华, 杨军钱, 等. 不同凋落物质量对杉木人工林土壤微生物群落结构的影响[J/OL]. *土壤学报*: 1-11[2020-05-26]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/32.1119.P.20200526.1145.004.html>
- [21] Smith AP, Marín-Spiotta E, de Graaff MA, et al. Microbial community structure varies across soil organic matter aggregate pools during tropical land cover change[J]. *Soil*

- Biology and Biochemistry, 2014, 77: 292-303
- [22] Kong B, Sun B, Zheng XQ, et al. Effect of hydrothermal conditions and fertilization on metabolic characteristics of microbial community in a black soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2009, 46(1): 100-106 (in Chinese)  
孔滨, 孙波, 郑宪清, 等. 水热条件和施肥对黑土中微生物群落代谢特征的影响[J]. *土壤学报*, 2009, 46(1): 100-106
- [23] Lu RK. *Methods for Soil Agrochemistry Analysis*[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000 (in Chinese)  
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
- [24] Looby CI, Treseder KK. Shifts in soil fungi and extracellular enzyme activity with simulated climate change in a tropical montane cloud forest[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 117: 87-96
- [25] Treseder KK, Maltz MR, Hawkins BA, et al. Evolutionary histories of soil fungi are reflected in their large-scale biogeography[J]. *Ecology Letters*, 2014, 17(9): 1086-1093
- [26] Liu JJ, Sui YY, Yu ZH, et al. Soil carbon content drives the biogeographical distribution of fungal communities in the black soil zone of northeast China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 83: 29-39
- [27] Paungfoo-Lonhienne C, Yeoh YK, Kasinadhuni NRP, et al. Nitrogen fertilizer dose alters fungal communities in sugarcane soil and rhizosphere[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 8678
- [28] Zhou J, Jiang X, Zhou BK, 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
- [29] Maček I, Dumbrell AJ, Nelson M, et al. Local adaptation to soil hypoxia determines the structure of an arbuscular mycorrhizal fungal community in roots from natural CO<sub>2</sub> springs[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(14): 4770-4777
- [30] Dou S. *Soil Organic Matters*[M]. Beijing: Science Press, 2010 (in Chinese)  
窦森. *土壤有机质*[M]. 北京: 科学出版社, 2010
- [31] Yao Q, Liu JJ, Yu ZH, et al. Three years of biochar amendment alters soil physiochemical properties and fungal community composition in a black soil of northeast China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 110: 56-67
- [32] Ma AZ, Zhuang XL, Wu JM, et al. Ascomycota members dominate fungal communities during straw residue decomposition in arable soil[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66146
- [33] Garbeva P, van Veen JA, van Elsas JD. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2004, 42: 243-270
- [34] Wang JT, Zheng YM, Hu HW, et al. Soil pH determines the alpha diversity but not beta diversity of soil fungal community along altitude in a typical Tibetan forest ecosystem[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2015, 15(5): 1224-1232
- [35] Li YC, Li YF, Chang SX, et al. Linking soil fungal community structure and function to soil organic carbon chemical composition in intensively managed subtropical bamboo forests[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 107: 19-31
- [36] Broeckling CD, Broz AK, Bergelson J, et al. Root exudates regulate soil fungal community composition and diversity[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(3): 738-744
- [37] Chen WT, Liu XB, Sui YY, et al. Effect of fertilization on different types of active organic carbon along soil organic matter gradient in arable black soil[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2013, 44(6): 1403-1407 (in Chinese)  
陈文婷, 刘晓冰, 隋跃宇, 等. 施肥对梯度有机质含量农田黑土各类有机碳的影响[J]. *土壤通报*, 2013, 44(6): 1403-1407
- [38] Hanson CA, Allison SD, Bradford MA, et al. Fungal taxa target different carbon sources in forest soil[J]. *Ecosystems*, 2008, 11(7): 1157-1167