

不同耕作和秸秆还田下褐土真菌群落变化特征

代红翠^{1,3}, 张慧^{2,3}, 薛艳芳^{2,3}, 高英波^{2,3}, 钱欣^{2,3}, 赵海军³, 成浩⁴, 李宗新^{2,3}, 刘开昌^{1,3}

(¹山东省农业科学院作物研究所, 济南 250100; ²山东省农业科学院玉米研究所, 济南 250100; ³小麦玉米国家工程实验室, 济南 250100;

⁴青岛农业大学农学院, 山东青岛 266109)

摘要:【目的】研究华北平原地区小麦-玉米周年复种模式下不同耕作和秸秆还田方式对土壤真菌群落结构及功能的影响, 并探索农田土壤肥力对耕作和秸秆还田方式响应差异的生物学机制, 为优化耕作与秸秆还田方式和提高农田土壤肥力提供理论依据。【方法】本研究以华北平原小麦-玉米周年复种农田土壤为研究对象, 采用 Miseq 高通量测序技术, 结合 FUNGuild 真菌功能预测工具, 分析 3 种耕作方式 (免耕、深耕与旋耕) 与两种秸秆还田方式 (麦秸单季还田与小麦-玉米秸秆双季还田) 定位试验条件下, 小麦成熟期土壤真菌群落结构与功能的差异, 结合土壤理化性质, 进一步探究农田土壤真菌群落结构及功能变化的环境驱动因子。【结果】与免耕双季还田相比, 深耕秸秆双季还田与深耕单季还田 0—10 cm 耕层土壤有机碳含量分别降低 35.04% 和 44.30%; 免耕秸秆单季还田 10—20 cm 耕层土壤中碱解氮含量显著低于其他处理。农田土壤 0—10 cm 土层真菌主要包含子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidiomycota) 和壶菌门 (Chytridiomycota), 相对丰度分别为 68.98%、16.96% 和 1.62%; 10—20 cm 土层真菌主要包含子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota) 和球囊菌门 (Glomeromycota), 相对丰度分别为 68.44%、15.52%、1.51% 和 1.23%。不同处理土壤真菌群落结构存在差异, 与秸秆单季还田相比, 秸秆双季还田 0—10 cm 和 10—20 cm 土层担子菌门 (Basidiomycota) 相对丰度分别提高了 50.07% 和 29.08%。进一步分析土壤群落结构发生变化的原因, 结果显示 0—10 cm 土层土壤真菌群落多元回归树第一次分割以土壤有机碳为节点, 其阈值为 11.17 g·kg⁻¹, 旋耕双季还田和免耕双季还田与其他处理分离; 10—20 cm 土层土壤真菌群落多元回归树第一次分割以碱解氮为节点, 其阈值为 6.52 mg·kg⁻¹, 免耕单季还田与其他处理分离。从营养类型看, 各处理 0—10 cm (26.84%) 和 10—20 cm (23.91%) 土层土壤真菌均以病理营养型为主; 与免耕相比, 深耕和旋耕处理 0—10 cm 土层病理营养型真菌相对丰度分别显著降低 25.16% 和 16.45%, 且以深耕单季还田最低。病理营养型真菌相对丰度与土壤有机碳、可溶性有机碳、全氮、碱解氮和速效钾含量均呈显著正相关关系。【结论】不同耕作与秸秆还田方式改变了农田土壤真菌群落结构及功能, 土壤有机碳和碱解氮的改变是影响真菌群落组成的主要因素; 深耕能够降低秸秆还田后土壤病理营养型真菌相对丰度, 利于保持农田土壤生态系统健康。

关键词: 耕作方式; 秸秆还田; 土壤真菌群落; 高通量测序; 多元回归树

Response of Fungal Community and Function to Different Tillage and Straw Returning Methods

DAI HongCui^{1,3}, ZHANG Hui^{2,3}, XUE YanFang^{2,3}, GAO YingBo^{2,3}, QIAN Xin^{2,3}, ZHAO HaiJun³, CHENG Hao⁴,
LI ZongXin^{2,3}, LIU KaiChang^{1,3}

(¹Crop Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100; ²Maize Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100; ³National Engineering Laboratory for Wheat and Maize, Jinan 250100;

⁴College of Agronomy, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, Shandong)

收稿日期: 2018-12-24; 接受日期: 2019-02-26

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFD0300606)、山东省现代农业产业技术体系玉米创新团队项目 (SDAIT-02-07, SDAIT-02-11)、山东省农业科学院农业科技创新工程 (CXGC2016A05)

联系方式: 代红翠, E-mail: daihongcui2013@163.com. 通信作者刘开昌, Tel: 0531-66659091; E-mail: liukc1971@126.com. 通信作者李宗新, Tel: 0531-66659402; E-mail: sdauciff@sina.com

Abstract: 【Objective】 This study was conducted to explore the change of fungal community structure and function response to different tillage and straw returning methods in wheat-maize rotation system in the North China Plain. It aimed to clarify the biological mechanism of soil fertility improvement, which provided a theoretical support for sustainable development for agricultural production. **【Method】** A six-year field study with split plot design was conducted to investigate the effects of different soil tillage methods (no tillage, CT; deep tillage, DT; rotation tillage, ST) and straw returning methods (wheat and maize straws were returned to the field, DS; only wheat straw was returned to the field, SS) on changes of fungal community structure and function in soils from wheat-maize rotation system in the North China Plain. In combination with soil properties, multiple regression trees and correlation analysis was carried out to investigate driving factors of fungal community structure and function in soil. **【Result】** The results showed that, compared with NT, soil organic carbon content under DS and SS were reduced by 35.04% and 44.30% in 0-10 cm layer, respectively. The available nitrogen of NT under SS treatment was significantly lower than that under other treatments in 10-20 cm layer. Ascomycetes (68.98%), Basidiomycetes (16.96%) and Chytridiomycetes (1.62%) were the dominant fungus in 0-10 cm layer, while Ascomycetes (68.44%), Basidiomycetes (15.52%), Chytridiomycetes (1.51%) and Coccidiomycetes (1.23%) were the dominant fungus in 10-20 cm layer. The different tillage and straw returning methods changed soil fungal community structure. Specifically, the relative abundance of *Basidiomycota* in DS increased 50.07% and 29.08% respectively in 0-10 cm and 10-20 cm layers than that of SS. The multiple regression trees showed that soil fungal communities were divided into soil organic carbon nodes with a threshold of 11.17 mg·kg⁻¹ in 0-10 cm layer, additionally, the soil fungi community were divided into available nitrogen nodes with a threshold of 6.52 mg·kg⁻¹ in 10-20 cm layer. In this study, Pathotroph was mainly function type of soil fungi in 0-10 cm (26.84%) and 10-20 cm (23.91%) layers in wheat-maize rotation in the North China Plain. Compared with NT, Pathotroph relative abundance under DT and RT treatments were reduced by 25.16% and 16.45%, respectively. The results of correlation analysis showed that Pathotroph relative abundance were positively correlated with soil total organic carbon, dissolved organic carbon, total nitrogen, available nitrogen and available potassium. **【Conclusion】** In general, our results indicated that different tillage and straw returning methods changed soil fungal community structure and relative abundance of functional groups. The content of soil organic carbon and available nitrogen were the driving factors shaped the fungal community structure. Besides, DT could reduce Pathotroph relative abundance, which was conducive to maintaining the soil ecosystem health.

Key words: tillage practice; straw returning; soil fungal community; high-throughput sequencing; multiple regression trees

0 引言

【研究意义】 耕地质量下降是中国农业可持续发展的主要限制性因素^[1]。在以小麦-玉米周年种植制度为主的华北平原, 长期的集约化种植使耕层浅薄化、土壤紧实化、养分利用率较低等一系列土壤健康问题尤为突出^[2]。这可能是由传统耕作措施(如翻耕、移除秸秆、过度施用化肥等)使表土暴露, 破坏了土壤结构, 引起耕地质量下降^[3-4]。目前, 耕作方式优化与秸秆还田被当作是现阶段该地区农田土壤肥力提升的重要措施^[5]。一般认为, 不同耕作、施肥和管理方式等可能引起土壤微生物群落和功能的变化。土壤微生物在土壤生态系统中起着关键作用, 80%—90%的土壤相关功能由微生物调节, 包括土壤养分转化, 土壤系统的稳定性及抗干扰能力等^[6]。真菌构成了大部分微生物生物量, 具有促进土壤有机质循环, 并且参与毒物降解和作物病害发生等重要的土壤生态过程^[7], 是维持生态系统功能的基础和生态系统健康的指示物^[8]。因此, 研究华北平原小麦玉米周年种植制度下,

耕作措施和秸秆还田方式下真菌群落、功能变化及其驱动因素对提升农田土壤肥力具有重要意义。**【前人研究进展】** 耕作方式作为重要的农田管理措施影响农业生态环境^[9], 合理的耕作与秸秆还田方式可以有效地增加土壤有机质含量, 为土壤微生物的生长与繁殖提供丰富的养分资源^[10]。WANG 等^[11]在西北塬土中研究发现, 耕作方式通过影响土壤颗粒机械组成和养分含量, 进而影响土壤子囊菌门和担子菌门的分布水平。SUN 等^[12]通过磷脂脂肪酸法(PLFA)研究认为在东北黑土中免耕比翻耕更有利于增加表层土壤微生物生物量, 且在表层形成以真菌为优势种群的群落, 利于真菌的生长。郭梨锦等^[13]在湖北小麦-水稻轮作农田中免耕显著降低真菌和革兰氏阴性菌的生物量以及真菌/细菌, 长期免耕和秸秆还田有利于提高土壤微生物多样性。可见, 耕作与秸秆还田方式影响农田土壤真菌群落生物量与群落组成。目前, 关于农田不同耕作与秸秆还田方式对土壤真菌群落结构与功能的影响研究并不完善。应用 Illumina MiSeq 高通量测序可以在种水平研究真菌群落组成, 但很难解读真菌的功

能^[14]。此外,基于 PLFA 法可以对主导作用的功能型真菌进行分类比较,但更侧重微生物群落的总体分析,总体种类较少,数据量相对较小^[15]。【本研究切入点】合理的耕作与秸秆还田方式能够改善土壤水、肥、气、热等条件,促进土壤微生物生长,是改善土壤肥力状况的重要措施。然而,土壤真菌群落及功能对不同耕作和秸秆还田方式的响应差异,尤其是不同耕作和秸秆还田方式影响了哪些关键养分指标,进而调控了土壤真菌群落与功能,亟需进行深入研究。本研究采用高通量测序法对土壤真菌群落多样性进行比较,并结合 FUNGuild 工具预测真菌功能营养型,系统比较不同耕作与秸秆还田方式对农田土壤真菌群落和功能的影响研究。【拟解决的关键问题】本文基于华北平原小麦-玉米周年复种多年定位试验,采用 Miseq 高通量测序,基于 FUNGuild 对真菌序列进行功能分类,研究土壤真菌群落结构及功能对不同耕作和秸秆还田方式的响应差异,并结合土壤理化性状揭示其驱动因素,以期阐明不同耕作和秸秆还田方式影响华北农田土壤肥力的生物学机制,为华北平原农田土壤地力提升提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

定位试验设于山东省农业科学院玉米研究所龙山试验基地(117°32'E, 36°43'N)。该试验基地位于华北平原典型小麦玉米一年两熟轮作区,土壤类型为褐土,属于典型温带大陆性季风气候,年均日照时数 2 647.6 h,年均气温 12.8℃,年均降雨量 600.8 mm,无霜期 209 d。试验地土壤有机质为 14.81 g·kg⁻¹,全氮为 0.85 g·kg⁻¹,有效磷为 19.26 mg kg⁻¹,速效钾为

46.37 mg kg⁻¹, pH 为 7.64。

自 2012 年 10 月,设置大田裂区试验,主因素为小麦播前免耕(NT)、深耕(DT)和旋耕(RT)3 种耕作方式(玉米均为免耕直播);副因素为小麦-玉米秸秆双季秸秆还田(DS)和小麦秸秆单季还田(SS),共 6 个处理(表 1)。每个处理 3 次重复,共 18 个小区,小区面积为 6 m×45 m=270 m²。小麦品种为济麦 22,播量 172.5 kg·hm⁻²,播种方式为宽幅精播;玉米品种为鲁单 9066,行距 60 cm,种植密度为 75 000 株/hm²。在小麦播种前,施用 600 kg·hm⁻² 复合肥(N:P₂O₅:K₂O 为 17:17:17)作基肥,小麦拔节期追施尿素 225 kg·hm⁻²。在玉米播种前,施用 600 kg·hm⁻² 复合肥(N:P₂O₅:K₂O 为 17:17:17)作基肥,在玉米大穗期追施尿素 225 kg·hm⁻²。

1.2 样品采集

于 2017 年 6 月小麦收获期,小区“S”形 5 点采集 0—10 cm 和 10—20 cm 耕层土壤样品。同小区同土层样品混为一个土样,用冰盒保存并迅速带回实验室。剔除植物根和小石块等杂质后,部分样品冻存于 -80℃ 冰箱中,用于土壤微生物分析,部分鲜土样用于测定土壤可溶性有机碳(DOC),部分样品自然风干后过 0.25 mm 和 1 mm 筛测定土壤养分指标,剩余样品 -80℃ 冷藏测定土壤真菌群落。

1.3 测定方法

采用重铬酸钾-容量法测定土壤有机碳(TOC),凯氏定氮法测定全氮(TN),碱解氮(AN)采用碱解扩散法,有效磷(AP)采用钼锑抗分光光度法,速效钾(AK)采用火焰光度法。以上测定方法均参考《土壤农化分析》^[16]。pH 测定采用电位法,水土比为 5:1。

表 1 不同耕作与秸秆还田方式处理
Table 1 Treatments of different tillage and straw returning methods

处理 Treatment	小麦季 Wheat season		玉米季 Maize season	
NTD	免耕+秸秆还田	Straw returning with no tillage	免耕直播+秸秆还田	Straw returning without tillage
NTS	免耕+秸秆还田	Straw returning with no tillage	免耕直播	No tillage
DTD	深耕+秸秆还田	Straw returning with deep tillage	免耕直播+秸秆还田	Straw returning without tillage
DTS	深耕+秸秆还田	Straw returning with deep tillage	免耕直播	No tillage
RTD	旋耕+秸秆还田	Straw returning with rotary tillage	免耕直播+秸秆还田	Straw returning without tillage
RTS	旋耕+秸秆还田	Straw returning with rotary tillage	免耕直播	No tillage

土壤真菌群落的 18S rRNA 测序土壤 DNA 提取使用 DNA 提取试剂盒 (OMEGA, 美国), 提取方法参照说明书。利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测抽提基因组 DNA 的纯度和完整性。使用 NanoDrop ND-2000 分光光度计 (NanoDrop, ND2000, Thermo Scientific, Wilmington) 测定所提 DNA 的浓度与纯度。选用真菌 18S 通用引物 0817F: 5'-TTAGCATGGAATAATRRAA TAGGA-3', 1196R: 5'-TCTGGACCTGGTGAGTTTCC -3' 进行扩增^[17], 选用 TransGen AP221-02 试剂盒, 扩增体系为 20 μL , 包括 4 μL 的 5 \times FastPfu Buffer, 2 μL 的 2.5 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ dNTPs, 引物 (5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 各 0.8 μL , 0.4 μL 的 FastPfu Polymerase 和 10 ng 模板 DNA。扩增条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 解链 2 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 25 个循环, 再 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min, 于 ABI GeneAmp[®] 9700 型 PCR 仪上进行。每个样本 3 次重复, 将同一样本的 PCR 产物混合后用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 回收扩增子, 依照 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit 说明书进行纯化 (Axygen Biosciences, Union City, U.S.), 再用 QuantiFluorTM-ST (Promega, U.S.) 进行定量。采用 Illumina MiSeq 测序平台标准流程进行双端进行测序, 由上海美吉生物医药科技有限公司提供技术支持。

1.4 数据统计

经过 QIIME (v1.8.0) 软件过滤、拼接、去除嵌合体后^[18-19], 聚类为用于物种分类的 OTU (Operational Taxonomic Units), 并将所有样品进行抽平。采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进行分类学分析^[20], 置信度阈值为 0.7, 选用 Silva (Release128 <http://www.arb-silva.de>) 数据库^[21], 得到分类学信息。利用 Mothur 软件 (Version 1.31.2) 进行 α 多样性分析^[22]。基于 Unifrac 距离进行群落结构分析^[23]。

根据 “1SE” 准则, 最小交叉验证相对误差值来确定分类结果, 能很好地反映异质环境下群落的结构特征^[24], 使用 R 3.5.1 软件运行 mvpart 和 MVPARTwrap 程序包运行并绘制多元回归树。使用 Python 3.7 进行真菌功能类群 FUNGuild 数据库^[25]比对。不同处理方差分析 (ANOVA) 与多重比较 (Duncan's test) 用 SPSS 20.0 软件完成。

2 结果

2.1 耕作方式对土壤理化性质的影响

不同耕作方式显著影响土壤理化性质 (表 2)。

方差分析结果表明, 耕作方式显著影响农田 0—10 cm ($P<0.01$) 及 10—20 cm 土层土壤有机碳 (TOC) ($P<0.001$), 0—10 cm ($P<0.01$) 及 10—20 cm 可溶性有机碳 (DOC) ($P<0.05$) 含量。土壤 0—10 cm 土层, 与免耕双季秸秆还田相比, 深耕双季秸秆还田 TOC 与 DOC 分别降低 35.04% 和 23.89% ($P<0.05$); 深耕单季秸秆还田 TOC 与 DOC 比免耕单季秸秆还田分别降低 26.09% 和 33.78% ($P<0.05$)。土壤 10—20 cm 土层, 深耕双季秸秆还田与旋耕双季秸秆还田 TOC 含量比免耕双季秸秆还田分别提高 21.64% 与 38.21% ($P<0.05$)。秸秆还田方式显著影响土壤 0—10 cm 及 10—20 cm 土层 TOC ($P<0.01$; $P<0.001$), DOC ($P<0.01$; $P<0.05$) 与 TN ($P<0.05$; $P<0.001$) 含量。免耕处理中, 单季秸秆还田比双季秸秆还田土壤 0—10 cm 土层 TOC、DOC 和 TN 分别显著降低 24.64%, 21.61% 和 12.61% ($P<0.05$)。

2.2 土壤真菌多样性

利用 Illumina MiSeq 平台对真菌 18S rRNA 基因测序结果显示, 36 个土壤样本共获得 1 372 440 条有效序列, 378 个 OTU, 各样本的覆盖率指数 (good's coverage) 显示各样本的覆盖率指数显示 0—10 及 10—20 cm 土层土壤 OTUs 涵盖了土壤中 99.9% 的真菌 (表 3)。测序深度能够比较真实地反映土壤样本的真菌群落, 代表真菌群落多样性。将数据抽平, 每个样品得到 23295 条高质量序列 (表 3)。

OTU 数目与 α 多样性指数表示物种的丰富度, 即一个群落或生境内物种的复杂程度, 值越高表明群落内物种数目越多。方差分析结果表明, 耕作方式显著影响 0—10 cm 和 10—20 cm 土层真菌 OTU 数目, 而秸秆还田方式显著影响 0—10 cm 土层真菌香农指数。

本研究中, 图 1 显示农田土壤 0—10 cm 土层真菌主要包含子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidiomycota) 和壶菌门 (Chytridiomycota), 相对丰度分别为 68.98%、16.96% 和 1.62%, 约占 87.55%, 未被分类到已知真菌 (Unclassified) 的序列占 9.45%; 土壤 10—20 cm 土层真菌主要包含子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota) 和球囊菌门 (Glomeromycota), 相对丰度分别为 68.44%、15.52%、1.51% 和 1.23%, 约占 86.71%, 未被分类到已知真菌的序列占 10.95%。其中, 双季秸秆还田 (DS) 处理比单季秸秆还田 (SS) 处理在 0—10 cm 和 10—20 cm 土层 Basidiomycota 相对丰度分别显著提高 50.07%

表 2 不同耕作和秸秆还田方式下土壤化学性质

Table 2 Chemical properties of the soils in different tillage and straw returning methods

土层 Layer (cm)	处理 Treatment	pH	有机碳 TOC (g·kg ⁻¹)	可溶性有机碳 DOC (mg·kg ⁻¹)	全氮 TN (g·kg ⁻¹)	碱解氮 AN (mg·kg ⁻¹)	有效磷 AP (mg·kg ⁻¹)	速效钾 AK (mg·kg ⁻¹)
0-10	NTD	7.04±0.10c	14.04±2.01a	49.09±5.78a	1.11±0.02a	11.11±1.99a	62.18±8.76a	180.39±16.56a
	NTS	7.38±0.14b	10.58±0.64bc	38.48±4.46b	0.97±0.10b	7.50±0.28b	39.76±5.81b	143.71±11.94b
	DTD	7.54±0.06ab	9.12±1.35cd	37.36±5.61b	1.03±0.08ab	9.49±0.70ab	42.52±6.46b	111.43±8.21c
	DTS	7.61±0.09a	7.82±0.15d	25.48±2.71c	0.98±0.04b	9.03±0.88ab	31.09±4.37b	92.67±5.47c
	RTD	7.45±0.12ab	12.15±1.29ab	41.08±3.65b	0.96±0.06b	9.84±0.77a	44.18±8.64b	147.77±10.25b
	RTS	7.47±0.14ab	10.08±1.45bc	39.68±2.61b	0.92±0.05b	9.95±1.65a	41.36±7.31b	112.44±15.52c
10-20	耕作方式 Tillage	ns	**	**	ns	ns	*	***
	还田方式 Returning	ns	***	**	*	*	**	***
	交互作用 Interaction	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
	NTD	7.80±0.21a	6.70±0.80c	35.95±5.30ab	0.78±0.18ab	7.30±0.58a	19.86±2.59b	94.87±5.29a
	NTS	7.87±0.16a	6.05±0.98c	28.51±2.94bc	0.61±0.08b	5.31±0.97b	16.91±3.49b	91.99±7.39a
	DTD	7.57±0.06a	8.15±0.80ab	29.57±5.01abc	0.92±0.11a	8.62±0.15a	27.39±4.55a	106.02±11a
耕作方式 Tillage	DTS	7.75±0.20a	7.33±0.17bc	25.21±1.98c	0.76±0.03ab	8.70±1.01a	23.37±1.77ab	98.75±9.89a
	RTD	7.53±0.23a	9.26±0.89a	37.44±4.88a	0.71±0.05b	7.90±1.30a	29.14±5.3a	102.81±2.97a
	RTS	7.72±0.15a	8.20±0.38ab	35.43±4.61ab	0.72±0.06b	8.00±0.66a	26.81±3.59a	98.92±4.15a
	耕作方式 Tillage	ns	***	*	ns	**	**	ns
	还田方式 Returning	ns	*	*	*	ns	ns	ns
	交互作用 Interaction	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

数据为平均值±标准差 (n=3)，同列数值后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。*表示 $P<0.05$ ，**表示 $P<0.01$ ，***表示 $P<0.001$ ，ns 表示差异不显著。NTD，免耕+双季秸秆还田；NTS，免耕+小麦单季秸秆还田；DTD，深耕+双季秸秆还田；DTS，深耕+小麦单季秸秆还田；RTD，深耕+双季秸秆还田；RTS，深耕+小麦单季秸秆还田。下同
Values are means ± standard deviation (n=3). Different letters mean significant differences ($P<0.05$). * Indicates a significant difference between treatments at $P<0.05$; ** Indicates a significant difference between treatments at $P<0.01$; *** Indicates a significant difference between treatments at $P<0.001$. No tillage+double-season returning (NTD), No tillage+single-season returning (NTS), Deep tillage+double-season returning (DTD), Deep tillage+single-season returning (DTS), Rotary tillage+double-season returning (RTD) and rotary tillage+single-season returning (RTS). The same as below

表 3 不同耕作和秸秆还田方式下土壤真菌高通量测序及群落 α 多样性指数

Table 3 Illumina MiSeq sequencing results and α-diversity of the fungal community with different tillage and straw returning methods

土层 Layer (cm)	处理 Treatment	序列数 Reads	操作分类单元 OTU	覆盖度 Coverage (%)	香农指数 Shannon index	ACE 指数 ACE index	Chao 1 指数 Chao 1 index
0-10	NTD	22368	160.67±4.73bc	99.86	2.93±0.09b	187.14±12.24a	190.50±17.14a
	NTS	22368	152.00±3.00c	99.88	2.96±0.05b	171.75±6.00a	170.46±4.52a
	DTD	22368	154.00±11.27bc	99.82	2.84±0.06b	194.55±45.81a	197.44±51.97a
	DTS	22368	175.00±1.00a	99.88	2.95±0.11b	203.64±4.26a	202.76±12.03a
	RTD	22368	167.00±16.52abc	99.87	2.87±0.03b	207.69±26.83a	212.52±23.99a
	RTS	22368	177.33±3.06a	99.85	3.10±0.08a	194.63±7.08a	194.01±12.00a
	耕作方式 Tillage	-	*	-	ns	ns	ns
	还田方式 Returning	-	ns	-	**	ns	ns
	交互作用 Interaction	-	*	-	ns	ns	ns
10-20	NTD	22368	167.00±4.36a	99.91	3.24±0.09a	184.75±6.58a	190.12±13.69a
	NTS	22368	131.33±8.14b	99.89	2.49±0.34b	153.34±2.32b	158.04±4.56b
	DTD	22368	143.67±10.07b	99.86	2.52±0.24b	158.66±11.23b	158.53±11.96b
	DTS	22368	178.67±2.08a	99.86	3.13±0.06a	193.56±5.18a	197.41±2.47a
	RTD	22368	163.33±7.64a	99.89	2.97±0.06a	194.48±14.13a	192.32±11.16a
	RTS	22368	172.33±13.05a	99.89	3.18±0.03a	200.79±16.43a	199.87±12.53a
	耕作方式 Tillage	-	**	-	ns	**	**
	还田方式 Returning	-	ns	-	ns	ns	ns
	交互作用 Interaction	-	***	-	***	**	***

和 29.08% (图 2, $P<0.05$)。β 多样性用来比较不同环境中真菌群落结构的差异性,UniFrac 距离用于估计不同处理间的差异。在 0—10 cm 土层,PCoA 纵坐标图显示 PC1 轴和 PC2 轴分别可以解释 37.29%和 23.11%群落组成差异(图 3-a)。相同处理的样本聚集在一起,这表明来自相同样本的相似性很高但不同处理的样品之间存在差异。秸秆单季还田中,免耕、深耕和旋耕处理之间的簇分离,进一步说明不同处理土壤真菌群落之间存在差异。相反,在 10—20 cm 土层,除 NTS 与 DTD 外,不同处理样本彼此靠近,说明处理之间真菌群落结构相似(图 3-b)。可见,不同耕作和秸秆还田制度对农田不同土层土壤真菌群落的影响存在差异。

2.3 土壤真菌功能类群

采用 FUNGuild 预测农田土壤真菌群落的营养型,本研究结果鉴定为病理营养型(Pathotroph)、腐生营养型(Saprotroph)和共生营养型(Symbiotroph)以及其他无法鉴定营养型的种群。从营养类型看,华北平原小麦玉米农田土壤真菌以病理营养型为主(图 4),与 NT 相比,DT 和 RT 处理分别显著降低 25.16%

和 16.45%(图 4-a, $P<0.05$),且以 DTS 处理最低。RT 处理腐生营养型真菌丰度显著高于 DT(0—10 cm)和 NT(10—20 cm)(图 4-b, $P<0.05$),说明秸秆还田后旋耕更有利于腐生营养型真菌的生长。共生营养型真菌在 0—10 cm 土层 SS 处理中含量显著高于 DS(图 4-c, $P<0.05$),说明连续多年集约化的双季秸秆还田不利于共生营养型真菌在农田耕层土壤中的富集。

2.4 土壤真菌群落结构与环境因子的关系

多元回归树(MRT)是一种研究物种分布与环境因子之间关系的数量分类方法。将微生物群落进行多元回归分析,以明确驱动土壤真菌群落的主要因子。图 5 显示不同处理 0—10 cm 土层土壤真菌群落多元回归树第一次分割以有机碳为节点,将所有处理分为两组,将 RTD 和 NTD 处理与其他处理分解,该次分组能解释群落结构变化的 40.58%,其阈值为 11.17;10—20 cm 土层土壤真菌群落多元回归树第一次分割以碱解氮为节点,将 NTS 处理与其他处理分解,该次分组能解释群落结构变化的 65.84%,其阈值为 6.52。

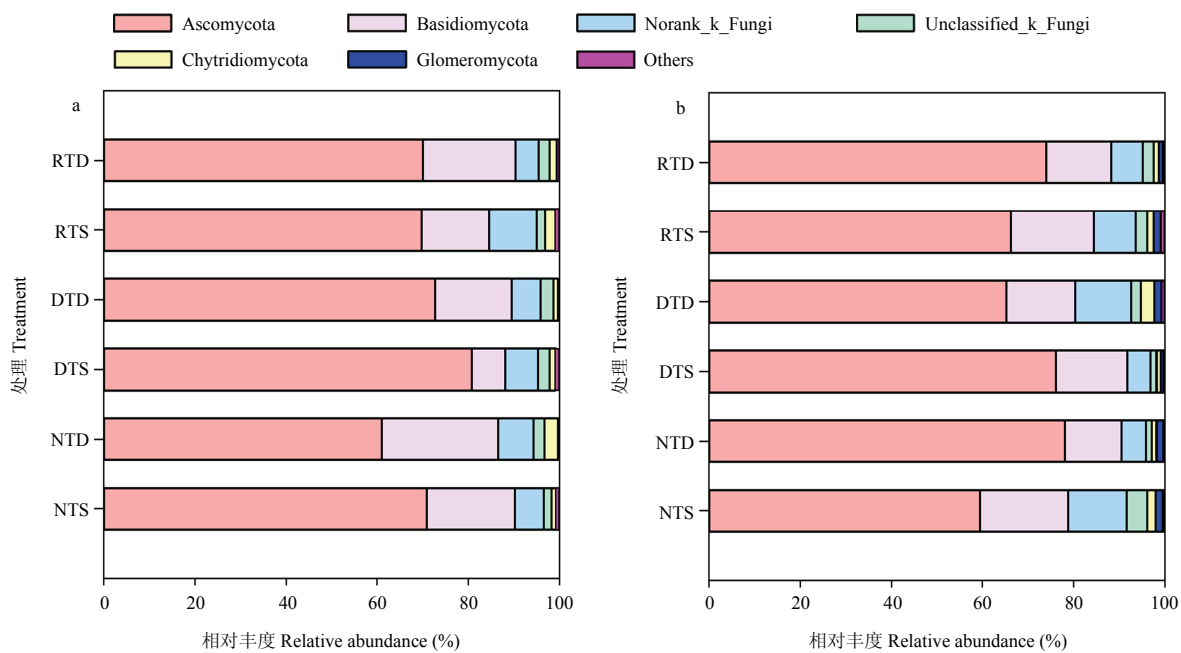
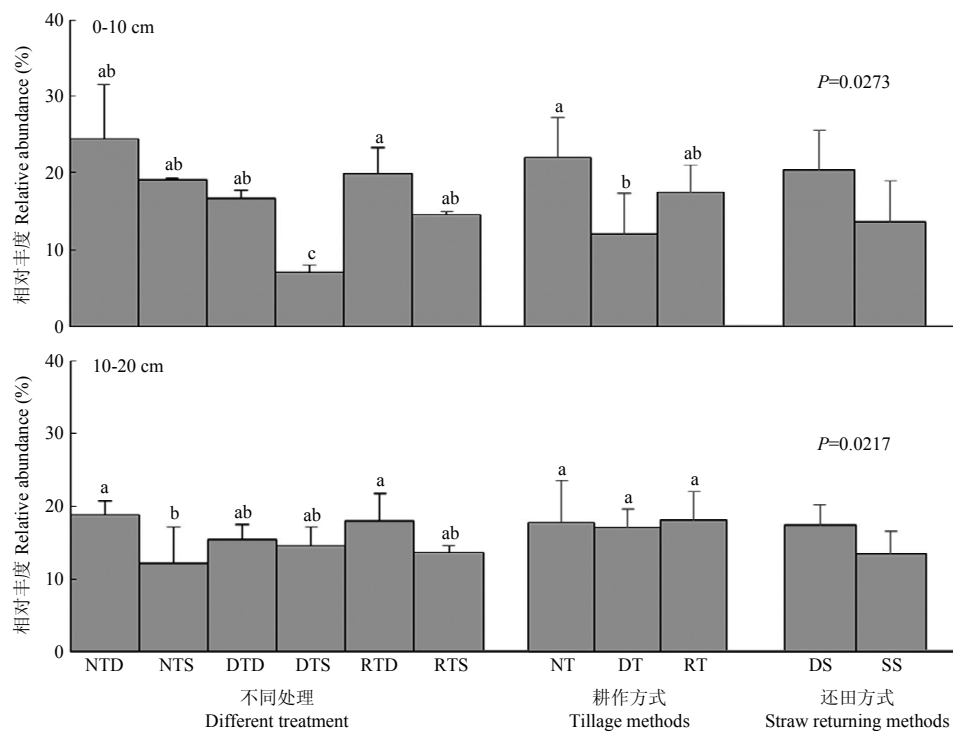


图 1 不同处理 0—10 cm (a) 和 10—20 cm (b) 土层真菌优势门组成 (平均相对丰度>1%)

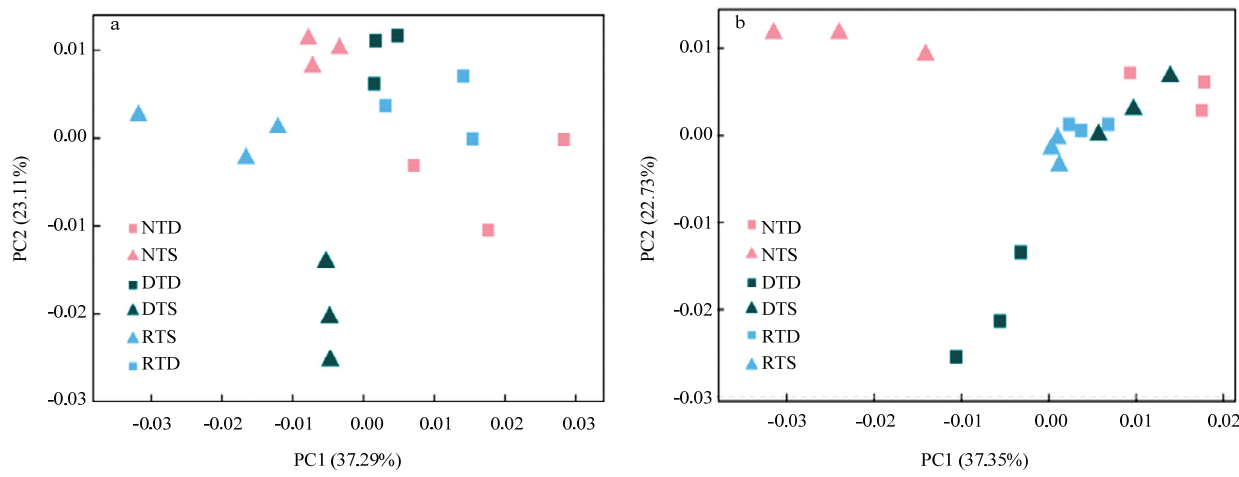
Fig. 1 Fungal community composition at the phylum levels in 0-10 cm (a) and 10-20 cm (b) layer under different tillage and returning treatments (the average relative abundance >1%)



NT: 免耕; DT: 深耕; RT: 旋耕; DS: 双季秸秆还田; SS: 单季秸秆还田。下同
NT: No tillage; DT: Deep tillage; RT: Rotary tillage; DS: Double-season straw returning; SS: Single-season straw returning. The same as below

图 2 不同耕作和秸秆处理下土壤 0—10 cm 和 10—20 cm 土层担子菌门相对丰度

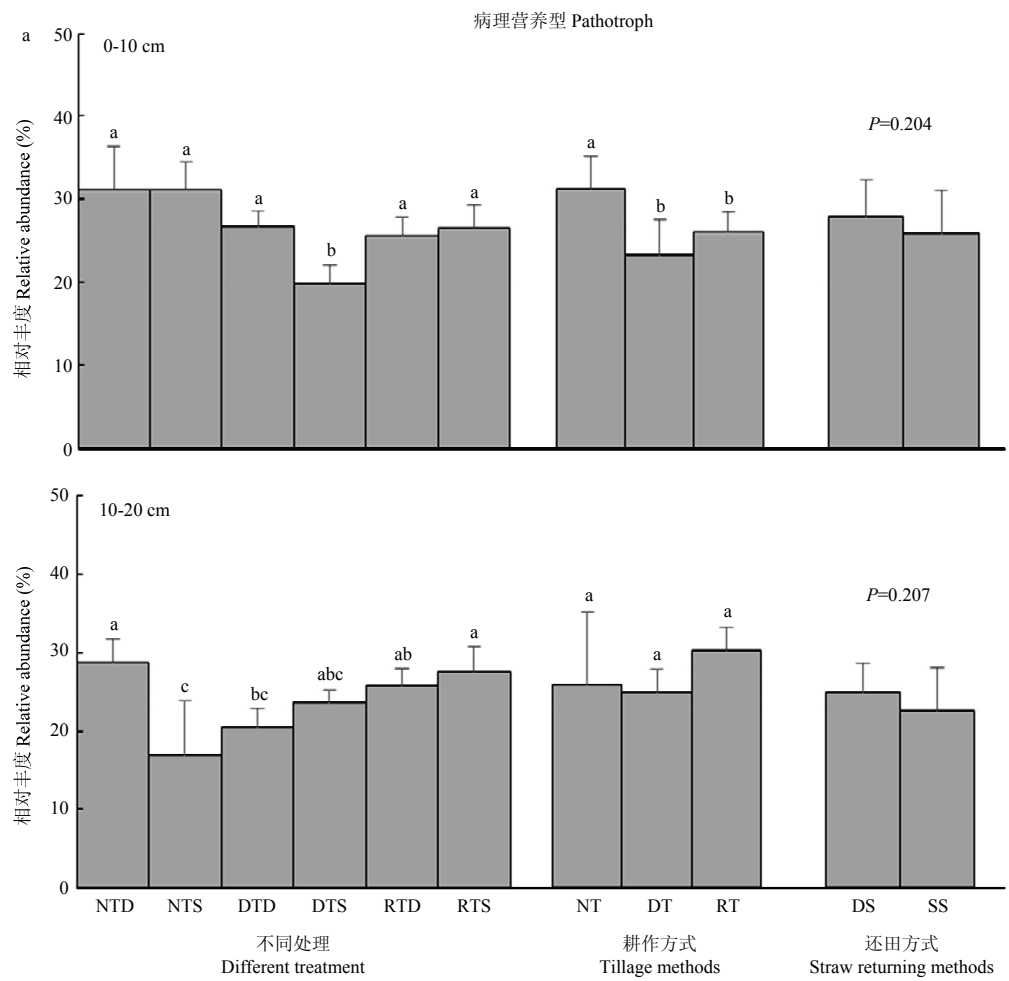
Fig. 2 The relative abundance of Basidiomycota in 0-10 cm and 10-20 cm layers with different tillage and straw returning regimes

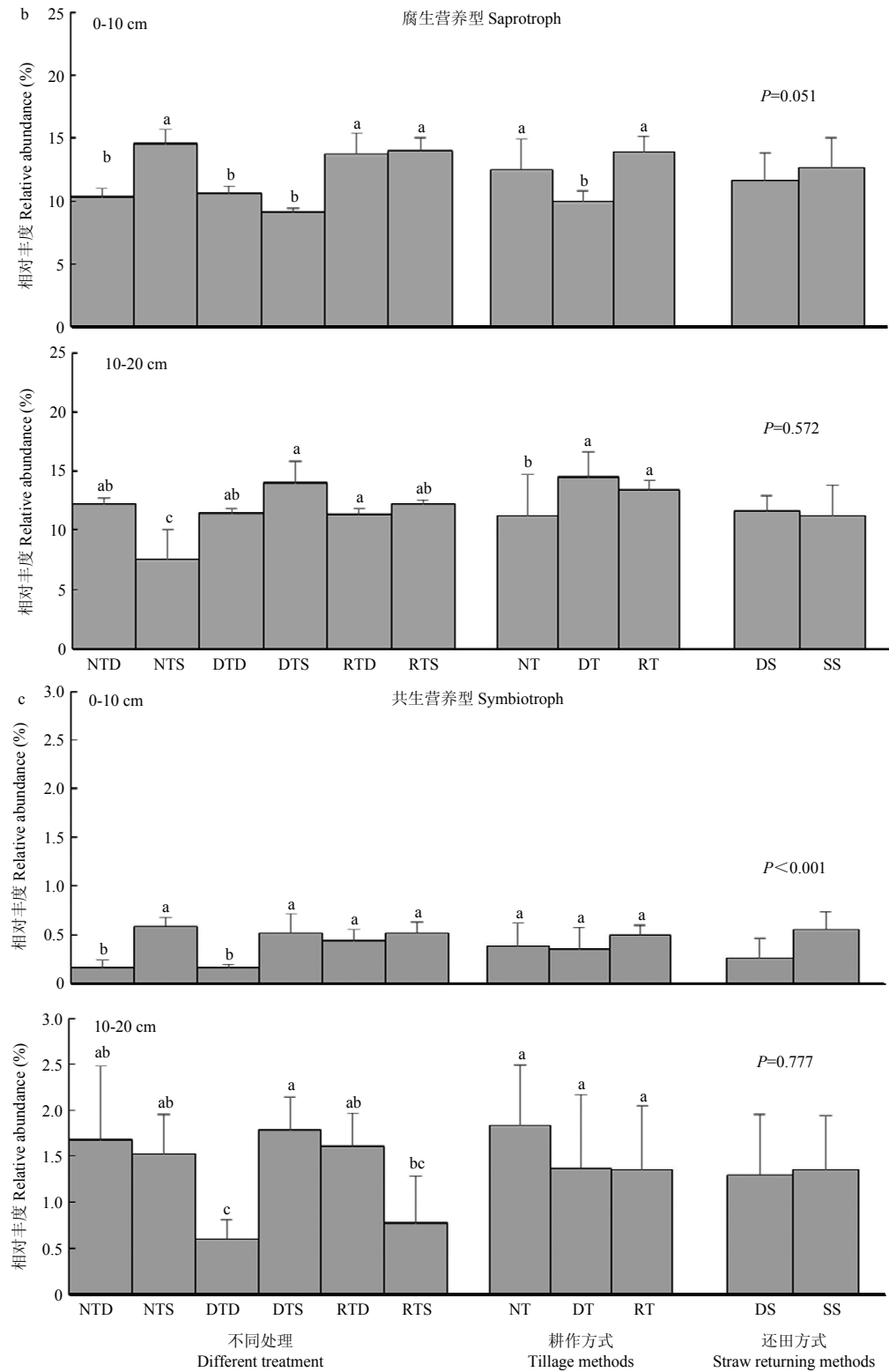


土壤 0—10 cm (a) 和 10—20 cm (b) 土层真菌群落主坐标分析, 采用 UniFrac 距离算法比较不同处理间群落的差异
Principal coordinate analysis (PCoA) of soil fungal communities in 0-10 cm (a) and 10-20 cm (b) layers under different treatment. Communities are compared using the UniFrac differences

图 3 不同耕作和秸秆方式下土壤真菌群落主坐标分析

Fig. 3 Principal coordinate analysis (PCoA) of soil fungal communities in different tillage and straw returning methods



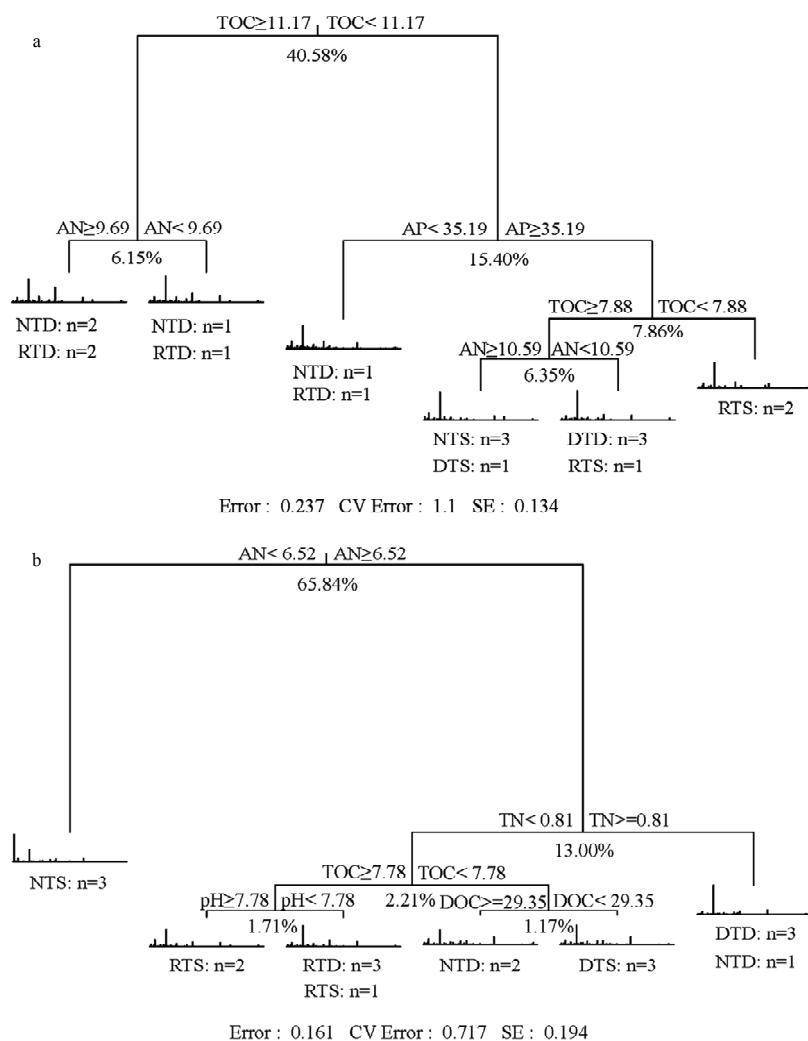


数据为平均值±标准差, 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)

Data are means±standard deviation; Different small letters mean significant differences ($P<0.05$)

图 4 不同耕作和秸秆还田方式下土壤 0—10 cm 和 10—20 cm 土层真菌功能营养型相对丰度

Fig. 4 The relative abundance of soil fungal functional groups in 0-10 cm and 10-20 cm layers with different tillage and straw returning methods



TOC: 有机碳; DOC: 可溶性有机碳; TN: 全氮; AN: 碱解氮; AP: 有效磷; AK: 速效钾; Error: 相对误差; CV error: 交叉验证误差; SE: 交叉验证标准误

TOC: Total organic carbon; DOC: Dissolved organic carbon; TN: Total nitrogen; AN: Available nitrogen; AP: Available nitrogen; AK: Available potassium; Error: Relative error; CV error: Cross-validation error; SE: Cross-validation standard error

图 5 不同耕作和秸秆还田方式下土壤 0—10 cm (a) 和 10—20 cm (b) 土层真菌群落的多元回归树分析

Fig. 5 Multivariate regression tree analysis of fungal communities in 0-10 cm (a) and 10-20 cm (b) layers with different tillage and straw returning methods

2.5 土壤真菌功能群与环境因子的关系

相关性分析结果显示, Pathotroph 丰度与土壤 TOC ($r=0.600$, $P<0.001$)、DOC ($r=0.563$, $P<0.001$)、TN ($r=0.428$, $P<0.01$)、AN ($r=0.394$, $P<0.05$) 和速效钾 ($r=0.517$, $P<0.01$) 均呈显著正相关关系。除土壤 pH 外 ($r=0.570$, $P<0.01$), Symbiotroph 丰度与土壤 TOC ($r=-0.535$, $P<0.01$)、TN ($r=-0.597$, $P<0.001$)、AN ($r=-0.525$, $P<0.01$)、AP ($r=-0.698$, $P<0.001$) 和 AK ($r=-0.503$, $P<0.01$) 均呈显著负相关关系。

3 讨论

3.1 耕作和秸秆还田方式对土壤真菌群落组成的影响

土壤真菌是土壤的重要组成成分, 与土壤肥力密切相关^[26]。不同的农田管理措施, 如种植方式^[27-28], 耕作措施^[29]及施肥^[15,30]等, 对土壤真菌群落结构及多样性的变化均有较大的影响。本研究结果显示, 不同耕作方式与秸秆还田方式下, 子囊菌门、担子菌门、壶菌门和接合菌门, 均为农田耕层土壤耕层的优势真

表 4 不同耕作与施肥制度土壤真菌功能营养型丰度与土壤理化性质的关系

Table 4 The relationship between abundance of functional groups and soil characteristics with different tillage and straw returning methods

功能营养型 Functional groups	pH	有机碳 TOC	可溶性有机碳 DOC	全氮 TN	碱解氮 AN	有效磷 AP	速效钾 AK
病理营养型 Pathotroph	0.087	0.600***	0.563***	0.428**	0.394*	0.291	0.517**
腐生营养型 Saprotroph	-0.180	0.286	0.249	0.11	0.204	0.058	0.194
共生营养型 Symbiotroph	0.570**	-0.535**	-0.323	-0.597***	-0.525**	-0.698***	-0.503**

*表示 $P<0.05$, **表示 $P<0.01$, ***表示 $P<0.001$; 样本数 $n=36$
*Indicates a significant difference between treatments at $P<0.05$; **Indicates a significant difference between treatments at $P<0.01$; ***Indicates a significant difference between treatments at $P<0.001$; Sample size ($n=36$)

菌。这与前人研究一致,如 WANG 等^[31]江苏稻麦轮作农田中发现子囊菌门(68.9%)与担子菌门(19.9%)占统治地位。与滇南茶园^[30],黄土高原春小麦-豌豆轮作^[32]和美国小麦-休闲不同耕作方式农田^[33]对土壤真菌群落结构的研究一致。然而,肖礼等^[27]发现黄土高原 3 种典型种植类型梯田玉米地、苹果、苹果与土豆间作土壤真菌优势菌群为子囊菌门与接合菌门。另外,也有研究报道波兰小麦-玉米农田土壤真菌优势菌群为接合菌门与担子菌门^[34]。

虽然不同耕作方式之间土壤真菌群落物种组成相似,但不同秸秆还田方式土壤主要真菌门相对丰度存在差异。秸秆双季还田担子菌相对丰度高于单季还田。这说明担子菌门的相对丰度受到秸秆还田量的影响。这可能是因为秸秆富含木质素^[35],担子菌门中的某些种群,如白腐真菌,分解碳氮比高的木质素^[36]。双季秸秆还田为担子菌提供了一个较好的生长环境,更多地利用降解作物残留物,从而促进其快速增长。不同处理因作物残体量的差异及土壤微环境的不同,进而改变了真菌物种组成。

3.2 真菌功能分类对耕作和秸秆还田方式的响应

选择适宜的耕作措施,增加真菌生物多样性,可以预防或减少根系疾病的损害,在保持土壤质量和健康方面发挥至关重要的作用。土壤真菌的多样性决定了生态系统的多样性和植物生产力^[26]。根据营养方式可将真菌分为病理营养型、腐生营养型和共生营养型 3 种类型。本研究结果显示,秸秆单季还田共生营养真菌丰度高于秸秆双季还田(图 4-c),其在作物健康、营养和品质方面具有重要作用^[15]。因此,我们认为秸秆单季还田比双季还田更有益于土壤肥力和作物生产。病理营养型真菌从宿主细胞获取营养来源,土壤中的病理营养型真菌对植物生长具有一定负面影响^[31,37]。本

研究中,病理营养型真菌相对丰度为 12.4%—37.2%,高于聂三安等^[15]黄泥土不同施肥试验中的相对含量。这说明连续的秸秆还田促进了土壤中的病理营养型真菌生长。不过,深耕一定程度上降低了病理营养型真菌丰度,这说明深耕能够降低秸秆还田后作物生长过程中潜在的负面影响。不同的耕作方式及秸秆还田方式带来的营养条件与土壤微环境的改变对病理营养型真菌存在显著影响,土壤 TOC 与病理营养型真菌显著正相关($P<0.001$),这说明通过大量秸秆还田,将土壤有机碳富集在耕层土壤,存在一定的负面影响。秸秆还田增加农田病虫害是我国华北地区麦玉轮作两季秸秆还田农业生态系统中普遍存在的问题^[38],本研究结果表明深耕能够减少土壤病原真菌,降低农田病虫害风险,促进作物生长,提高产量与品质。腐生真菌汲取生长所需营养及氨基酸类物质^[39],但研究结果显示腐生营养型真菌丰度与土壤 TOC 和 DOC 并无相关关系。这可能是因为 FUNGuild 功能比对是基于已有文献和数据,仅在一定程度上解析了真菌的功能^[31]。本研究中 62.00%的土壤真菌功能未被解析出来,复杂的土壤真菌群落功能仍有待深入研究。

3.3 土壤真菌群落组成及功能的相关因子分析

本研究发现土壤 TOC(0—10 cm)是影响褐土真菌群落的主要因素,这与 LIU 等^[40]报道东北黑土区与北方旱地区^[41]土壤真菌群落的主要影响因子为土壤 TOC 相一致。对于免耕秸秆双季还田与旋耕双季秸秆还田来说,大量秸秆还田提高了表层土壤有机质。有机质作为微生物的能量来源和代谢底物,土壤有机质的含量及其成分显著影响着微生物的群落组成^[42]。秸秆富含木质素,通过秸秆还田土壤中增加的有机碳成分多为复杂且难被分解的木质素等,更易被 K-策略

的贫营养型真菌群落分解利用^[43]。故免耕秸秆双季还田与旋耕双季秸秆还田真菌群落区别于其他处理。与此同时, 研究发现土壤碱解氮是影响 10—20 cm 土层真菌群落的主要因素, 与裴振等^[44]在黄河三角洲盐碱地土壤中研究结果相似。然而, 这与北极圈群岛^[45]、瑞典北部森林^[46]、我国毛竹林^[47]和英国农田土壤中^[48], pH 是影响真菌群落结构的主要理化性质的研究结果不同。这可能是因为本研究中, 不同处理 pH 变化范围不大, 不足以对真菌群落结构和功能产生影响。以上分析表明, 不同秸秆还田及耕作方式对土壤 TOC 及 AN 的改变是影响真菌群落的主要原因。

4 结论

本文通过对土壤真菌 Illumina 高通量测序结合 FUNGuild 功能比对, 研究华北平原多年定位试验条件下小麦-玉米周年复种农田土壤真菌群落多样性和功能对不同耕作与秸秆还田方式的响应。本研究中, Ascomycota 和 Basidiomycota 是华北平原小麦-玉米农田土壤中的优势真菌, 以子囊菌为主。此外, 双季秸秆还田比单季秸秆还田提高了 Basidiomycota 相对丰度, 土壤有机碳和碱解氮是影响土壤真菌群落结构发生变化的主要因素。与免耕和旋耕相比, 深耕能够降低秸秆还田后病理营养型真菌相对丰度, 降低作物生长存在潜在的负面影响, 有利于保持农田土壤生态系统健康。

References

- [1] FAN M, SHEN J, YUAN L, JIANG R, CHEN X, DAVIES W J, ZHANG F. Improving crop productivity and resource use efficiency to ensure food security and environmental quality in China. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(1): 13.
- [2] 田慎重, 王瑜, 张玉凤, 边文范, 董亮, 罗加法, 郭洪海. 旋耕转深松和秸秆还田增加农田土壤团聚体碳库. *农业工程学报*, 2017, 24(33): 133-140.
TIAN S Z, WANG Y, ZHANG Y F, BIAN W F, DONG L, LUO J F, GUO H H. Residue returning with subsoiling replacing rotary tillage improving aggregate and associated carbon. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2017, 24(33): 133-140. (in Chinese)
- [3] 宋明伟, 李爱宗, 蔡立群, 张仁陟. 耕作方式对土壤有机碳库的影响. *农业环境科学学报*, 2008, 27(2): 622-626.
SONG M W, LI A Z, CAI L Q, ZHANG R Z. Effects of different tillage methods on soil organic carbon pool. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(2): 622-626. (in Chinese)
- [4] 张建军, 王勇, 樊廷录, 郭天文, 赵刚, 党翼, 王磊, 李尚中. 耕作方式与施肥对陇东旱塬冬小麦-春玉米轮作农田土壤理化性质及产量的影响. *应用生态学报*, 2013, 24(4): 1001-1008.
ZHANG J J, WANG Y, FAN T L, GUO T W, ZHAO G, DANG Y, WANG L, LI S Z. Effects of different tillage and fertilization modes on the soil physical and chemical properties and crop yield under winter wheat/spring corn rotation on dryland of east Gansu, Northwest China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(4): 1001-1008. (in Chinese)
- [5] 赵亚丽, 薛志伟, 郭海斌, 穆心愿, 李潮海. 耕作方式与秸秆还田对冬小麦-夏玉米耗水特性和水分利用效率的影响. *中国农业科学*, 2014, 47(17): 3359-3371.
ZHAO Y L, XUE Z W, GUO H B, MU X Y, LI C H. Effects of tillage and straw returning on water consumption characteristics and water use efficiency in the winter wheat and summer maize rotation system. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(17): 3359-3371. (in Chinese)
- [6] 杨学明, 张晓平, 方华军, 梁爱珍, 齐晓宁, 王洋. 北美保护性耕作及对中国的意义. *应用生态学报*, 2004, 2(15): 335-340.
YANG X M, ZHANG X P, FANG H J, LIANG A Z, QI X N, WANG Y. Conservation tillage systems in North America and their significance for China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 2(15): 335-340. (in Chinese)
- [7] 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.
CHEN D M, YUAN L, HUANG J G, JI J H, HOU H Q, LIU Y R. Influence of long-term fertilizations on nutrients and fungal communities in typical paddy soil of South China. *Acta Agronomica Sinica*, 2017, 43(2): 286-295. (in Chinese)
- [8] 孙冰洁, 贾淑霞, 张晓平, 梁爱珍, 陈学文, 张士秀, 刘四义, 陈升龙. 耕作方式对黑土表层土壤微生物生物量碳的影响. *应用生态学报*, 2015, 26(1): 101-107.
SUN B J, JIA S X, ZHANG X P, LIANG A Z, CHEN X W, ZHANG S X, LIU S Y, CHEN S L. Impact of tillage practices on microbial biomass carbon in top layer of black soils. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(1): 101-107. (in Chinese)
- [9] AZOOZ R H, ARSHAD M A, FRANZLUEBBERS A J. Pore size distribution and hydraulic conductivity affected by tillage in northwestern Canada. *Soil Science Society of America Journal*, 1996, 60: 1197-1201.

- [10] 郭梨锦. 免耕与秸秆还田对稻麦种植系统土壤有机碳库与微生物多样性的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2018.
- GUO L J. Effects of no-tillage and straw return on soil organic carbon pool and microbial diversity in rice-wheat systems[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2018. (in Chinese)
- [11] WANG Z T, LIU L, CHEN Q, WEN X X, LIAO Y C. Conservation tillage increases soil bacterial diversity in the dryland of northern China. *Agronomy for Sustainable Development*, 2016, 36(2): 28-36.
- [12] SUN B J, JIA S X, ZHANG S X, MCLAUGHLIN N B, ZHANG X P, LIANG A Z, CHEN X W, WEI S C, LIU S Y. Tillage, seasonal and depths effects on soil microbial properties in black soil of Northeast China. *Soil and Tillage Research*, 2016, 155: 421-428.
- [13] 郭梨锦, 曹凑贵, 张枝盛, 刘天奇, 李成芳. 耕作方式和秸秆还田对稻田表层土壤微生物群落的短期影响. 农业环境科学学报, 2013, 32(8): 1577-1584.
- GUO L J, CAO C G, ZHANG Z S, LIU T Q, LI C F. Short-term effects of tillage practices and wheat-straw returned to rice fields on topsoil microbial community structure and microbial diversity in central China. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(8): 1577-1584. (in Chinese)
- [14] 姚晓东, 王妮, 曾辉. 磷脂脂肪酸法在土壤微生物群落分析中的应用. 微生物学通报, 2016, 43(9): 2086-2095.
- YAO X D, WANG W, ZENG H. Application of phospholipid fatty acid method in analyzing soil microbial community composition. *Microbiology China*, 2016, 43(9): 2086-2095. (in Chinese)
- [15] 聂三安, 王祎, 雷秀美, 赵丽霞, 林瑞余, 王飞, 邢世和. 黄泥田土壤真菌群落结构和功能类群组成对施肥的响应. 应用生态学报, 2018, 29(8): 2721-2729.
- NIE S A, WANG W, LEI X M, ZHAO L X, LIN R Y, WANG F, XING S H. Response of fungal community structure and functional group to fertilization in yellow clayey soil. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2018, 29(8): 2721-2729. (in Chinese)
- [16] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2000: 34-35, 44-49, 56-58, 81, 106-107.
- BAO S D. *Soil and Agricultural Chemistry Analysis*. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 34-35, 44-49, 56-58, 81, 106-107. (in Chinese)
- [17] ROUSK J, BÅÅTH E, BROOKES P C, LAUBER C L, LOZUPONE C, CAPORASO J G, KNIGHT R, FIERER N. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *ISME Journal*, 2010, 4(10): 1340-1351.
- [18] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [19] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, BITTINGER K, BUSHMAN F D, COSTELLO E K, FIERER N, PEA A G, GOODRICH J K, GORDON J I, HUTTLEY G A, KELLEY S T, KNIGHTS D, KOENIG J E, LEY R E, LOZUPONE C A, MCDONALD D, MUEGGE B D, PIRRUNG M, REEDER J, SEVINSKY J R, TURNBAUGH P J, WALTERS W A, WIDMANN J, YATSUNENKO T, ZANEVELD J, KNIGHT R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 2010, 7: 335-336.
- [20] WANG Q, GARRITY G M, TIEDJE J M, COLE J R. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261-5267.
- [21] QUAST C, PRUESSE E, YILMAZ P, GERKEN J, SCHWEER T, YARZA P, PEPLIES J, GLÖCKNER F O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(1): 590-596.
- [22] SCHLOSS P D, GEVERS D, WESTCOTT S L. Reducing the effects of PCR amplification and sequencing artifacts on 16S rRNA-based studies. *PLoS ONE*, 2011, 6(12): 1-14.
- [23] CATHERINE L, ROB K. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71: 8228-8235.
- [24] DE'ATH G. Multivariate Regression trees: A new technique for modeling species-environment relationships. *Ecology*, 2002, 83(4): 1105-1117.
- [25] NGUYEN N H, SONG Z, BATES S T, BRANCO S, TEDERSOO L, MENKE J, SCHILLING, JONATHAN S, KENNEDY P G. Funguild: an open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, 2015, 20: 241-248.
- [26] FRAC M, HANNULA S E, BELKA M, JĘDRYCZKA M. Fungal biodiversity and their role in soil health. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1-9.
- [27] 肖礼, 黄懿梅, 赵俊峰, 周俊英, 郭泽慧, 刘洋. 土壤真菌组成对黄土高原梯田种植类型的响应. 中国环境科学, 2017, 37(8): 3151-3158.
- XIAO L, HUANG Y M, ZHAO J F, ZHOU J Y, GUO Z H, LIU Y. High-throughput sequencing revealed soil fungal communities under

- three terrace agrotypes on the loess plateau. *China Environmental Science*, 2017, 37(8): 3151-3158. (in Chinese)
- [28] 李锐, 刘瑜, 褚贵新. 不同种植方式对绿洲农田土壤酶活性与微生物多样性的影响. *应用生态学报*, 2015, 26(2): 490-496.
- LI R, LIU Y, CHU G X. Effects of different cropping patterns on soil enzyme activities and soil microbial community diversity in oasis farmland. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(2): 490-496. (in Chinese)
- [29] 何玉梅, 张仁陟, 张丽华, 解开治. 不同耕作措施对土壤真菌群落结构与生态特征的影响. *生态学报*, 2007, 27(1): 113-119.
- HE Y M, ZHANG R Z, ZHANG L H, XIE K Z. Effects of different tillage practices on fungi community structure and ecologic characteristics in loess soils. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(1): 113-119. (in Chinese)
- [30] 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): 1-8.
- 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): 1-8. (in Chinese)
- [31] WANG J, RHODES G, HUANG Q, SHEN Q R. Plant growth stages and fertilization regimes drive soil fungal community compositions in a wheat-rice rotation system. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54(6): 731-742.
- [32] ESSEL E, LI L, DENG C, XIE J, ZHANG R, LUO Z, CAI L. Evaluation of bacterial and fungal diversity in a long-term spring wheat-field pea rotation field under different tillage practices. *Canadian Journal of Soil Science*, 2018, 98: 1-19.
- [33] SCHLATTER D C, SCHILLINGER W F, BARY A I, SHARRATT B, PAULITZ T C. Biosolids and conservation tillage: Impacts on soil fungal communities in dryland wheat-fallow cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 115: 556-567.
- [34] ANNA G, JAROSLAW G. Fungal genetics and functional diversity of microbial communities in the soil under long-term monoculture of maize using different cultivation techniques. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1-9.
- [35] 张经廷, 张丽华, 吕丽华, 董志强, 姚艳荣, 金欣欣, 姚海坡, 贾秀领. 还田作物秸秆腐解及其养分释放特征概述. *核农学报*, 2018, 32(11): 2274-2280.
- ZHANG J T, ZHANG L H, LYU L H, DONG Z Q, YAO Y R, JIN X X, YAO H P, JIA X L. Overview of the characteristics of crop straw decomposition and nutrients release of returned field crops. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2018, 32(11): 2274-2280. (in Chinese)
- [36] LAUBER C L, STRICKLAND M S, BRADFORD M A, FIERER N. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2407-2415.
- [37] NTHONY M A, FREY S D, STINSON K A. Fungal community homogenization, shift in dominant trophic guild, and appearance of novel taxa with biotic invasion. *Ecosphere*, 2017, 8(9): 1-17.
- [38] 董印丽, 李振峰, 王若伦, 卜学平, 付建敏, 董秀秀. 华北地区小麦、玉米两季秸秆还田存在问题及对策研究. *中国土壤与肥料*, 2018(1): 159-163.
- DONG Y L, LI Z F, WANG R L, BU X P, FU J M, DONG X X. Study on the problems and countermeasures of returning wheat and corn stalks into the soil in north China. *Soils and Fertilizers Sciences in China*, 2018(1): 159-163. (in Chinese)
- [39] 李秀璋. 醉马草内生真菌与宿主种带真菌、根际微生物的互作及其进化研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2017.
- LI X Z. Study on the evolution and interactions of *Epichloë gansuensis* with host seed-borne fungi and rhizospheric microorganism[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2017. (in Chinese)
- [40] LIU J, SUI Y, YU Z, SHI Y, CHU, H, JIN J, LIU X, WANG G. Soil carbon content drives the biogeographical distribution of fungal communities in the black soil zone of northeast China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 83: 29-39.
- [41] WANG Z, CHEN Q, LIU L, WEN X, LIAO Y. Responses of soil fungi to 5-year conservation tillage treatments in the drylands of northern China. *Applied Soil Ecology*, 2016, 101: 132-140.
- [42] 王慧颖, 徐明岗, 周宝库, 段英华. 黑土细菌及真菌群落对长期施肥响应的差异及其驱动因素. *中国农业科学*, 2018, 51(5): 914-925.
- WANG H Y, XU M G, ZHOU B K, MA X, DUAN Y H. Response and driving factors of bacterial and fungal community to long-term fertilization in black soil. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(5): 914-925. (in Chinese)
- [43] STRICKLAND M S, ROUSK J. Considering fungal:bacterial dominance in soils-Methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(9): 1385-1395.
- [44] 裴振, 孔强, 郭笃发. 盐生植被演替对土壤微生物碳源代谢活性的

- 影响. 中国环境科学, 2017, 37(1): 373-380.
- PEI Z, KONG Q, GUO D F. Effect of succession of halophytic vegetation on soil microbial carbon metabolic activity. *China Environmental Science*, 2017, 37(1): 373-380. (in Chinese)
- [45] ZHANG T, WANG N, LIU H, 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: 1-10.
- [46] HÖGBERG M N, YARWOOD S A, MYROLD D D. Fungal but not bacterial soil communities recover after termination of decadal nitrogen additions to boreal forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 72: 35-43.
- [47] 李永春, 梁雪, 李永夫, 王祈, 陈俊辉, 徐秋芳. 毛竹入侵阔叶林对土壤真菌群落的影响. 应用生态学报, 2016, 27(2): 585-592.
- LI Y C, LIANG X, LI Y F, WANG Q, CHEN J H, XU Q F. Effects of *Phyllostachys edulis* invasion of native broadleaf forest on soil fungal community. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27(2): 585-592. (in Chinese)
- [48] ROUSK J, BROOKES P C, BAATH E. Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(6): 1589-1596.
- (责任编辑 李云霞)