

# 连续施用不同氮量对半干旱地区马铃薯根际真菌群落结构的影响

邓德雷<sup>1,2</sup>, 罗超越<sup>1,2</sup>, 邱慧珍<sup>1,2</sup>, 张健<sup>1,2</sup>, 张春红<sup>1,2</sup>, 付笑<sup>1,2</sup>, 沈其荣<sup>3</sup>

(1. 甘肃农业大学资源与环境学院/甘肃省干旱生境作物学重点实验室, 甘肃兰州 730070;

2. 甘肃省畜禽废弃物资源化利用工程研究中心, 甘肃兰州 730070; 3. 南京农业大学资源与环境学院, 江苏南京 210095)

**摘要:**针对马铃薯生产中因氮肥过量施用导致的土壤微生物群落结构失衡和多样性下降等问题,在始于2013年的不同氮肥用量(N0:不施氮,对照;N75:施氮量 $75\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ;N150:施氮量 $150\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ;N225:施氮量 $225\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ;N300:施氮量 $300\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ;N375:施氮量 $375\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ )田间定位试验中,于2017年马铃薯成熟期采集根际土壤,应用Illumina PE250测序等分子生物学手段,研究连续5 a施用不同氮量对半干旱地区马铃薯根际真菌群落结构的影响。结果表明:不同施氮量对马铃薯根际真菌群落物种组成造成了显著影响,子囊菌门、Mucoromycota和担子菌门是3个优势门类真菌(相对丰度 $>1.0\%$ ),以子囊菌门的相对丰度最大,占总序列的 $75.48\%\sim 83.95\%$ ,其优势属是*Plectosphaerella*( $29.92\%$ )和镰刀菌属( $13.54\%$ );马铃薯干腐病和枯萎病的病原菌——镰刀菌属的相对丰度随施氮量增加呈增大的趋势。马铃薯根际真菌Alpha多样性随施氮量的增加而降低。连续5 a超量施氮导致了0~20 cm表层土壤中 $\text{NO}_3^--\text{N}$ 含量显著增加,N375处理的 $\text{NO}_3^--\text{N}$ 含量是N0处理的3.76倍。连续5 a超量施氮也显著降低了根际pH值和速效磷含量,N375处理比N0处理pH值和速效磷含量分别降低了0.17个单位和32.10%。RDA及相关性分析结果表明,土壤硝态氮含量是影响马铃薯根际真菌群落结构变化的主要因素( $F=1.571, P=0.043^*$ )。连续大量施用氮肥显著降低了马铃薯块茎产量,连续施氮5 a后,由于土壤剖面中 $\text{NO}_3^--\text{N}$ 的积累,最高产量施肥量由2013—2014年的N225减为N75,其它施氮处理较N75分别减产了3.46%、22.81%、26.05%和25.32%。长期过量施用氮肥使马铃薯根际硝态氮大量累积,导致pH值降低,进而使根际真菌多样性降低;同时过量氮肥施用会使根际中土壤真菌病原菌相对丰度增加,不利于土壤的健康和马铃薯的高产。

**关键词:**氮肥过量;马铃薯;根际真菌群落结构;群落多样性;土传病害病原菌

中图分类号:S154.3;S143.1 文献标志码:A

## Effects of continuous application of different nitrogen rates on fungal community structure in potato rhizosphere in semi-arid area of Gansu Province

DENG Delei<sup>1,2</sup>, LUO Chaoyue<sup>1,2</sup>, QIU Huizhen<sup>1,2</sup>, ZHANG Jian<sup>1,2</sup>,

ZHANG Chunhong<sup>1,2</sup>, FU Xiao<sup>1,2</sup>, SHEN Qirong<sup>3</sup>

(1. College of Resources and Environmental Sciences / Gansu Provincial Key Lab of Aridland Crop Science,

Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China;

2. Engineering Research Center of Livestock and Poultry Waste Resource Utilization in Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730070, China;

3. College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

**Abstract:** In view of the imbalance of soil microbial community structure and the decline of diversity caused by excessive application of nitrogen (N) fertilizer in potato production, a positioned field experiment of different N application rates (N0: no N application, control, N75:  $75\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ , N150:  $150\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ , N225:  $225\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ , N300:  $300\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ , and N375:  $375\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ) was conducted in 2013. Rhizosphere soil was collected during potato ripening period for 7 years. Molecular biological sequencing methods, Illumina PE250, was used to

收稿日期:2019-03-13

修回日期:2019-05-30

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)(2015CB150501);国家重点研发计划“农业面源和重金属污染农田综合防治与修复技术研发”专项“农业废弃物资源化利用机制”项目(2017YFD0800200);国家自然科学基金(31760614)

作者简介:邓德雷(1993-),男,河南商丘人,硕士研究生,研究方向为氮素循环。E-mail:727183753@qq.com

通信作者:邱慧珍,教授,博士生导师,主要从事植物营养与有机肥料研究。E-mail:hqiu@gsau.edu.cn

study the effects of different N levels on the rhizosphere fungi community structure of potato in semi-arid areas for 5 consecutive years. The species composition of the potato rhizosphere fungi community was significantly affected by different N application rates. Ascomycota, Mucoromycota, and Basidiomycota were the three dominant fungi (relative abundance >1.0%). The relative abundance of Ascomycota was the largest, accounting for 75.48%~83.95% of the total sequence. The dominant species were *Plectosphaerella* (29.92%) and *Fusarium* (13.54%). The relative abundance of *Fusarium*, the pathogens of potato dry rot, and *Fusarium* wilt, increased with the increase in N application. Alpha diversity of potato rhizosphere fungi decreased with the increase in N application. Over-application of N for 5 years resulted in a significant increase of  $\text{NO}_3^-$ -N content in 0~20 cm topsoil. The  $\text{NO}_3^-$ -N content in N375 treatment was 3.76 times higher than that in N0 treatment. Over-application of N for 5 years also significantly reduced the pH value and available phosphorus content in rhizosphere. N375 treatment decreased 0.17 units and 32.10%, respectively, compared with N0 treatment. RDA and correlation analysis showed that soil nitrate N content was the main factor affecting the changes in fungal community structure in potato rhizosphere ( $F = 1.571$ ,  $P = 0.043^*$ ). Continuous large-scale application of N fertilizer significantly reduced potato tuber yield; after 5 years of continuous N application, due to the accumulation of  $\text{NO}_3^-$ -N in soil profile, the maximum yield fertilization decreased from N225 in 2013–2014 to N75, and other N treatments reduced the yield by 3.46%, 22.81%, 26.05% and 25.32%, respectively, compared with N75. Long-term excessive N application resulted in a large accumulation of nitrate N in potato rhizosphere, which led to a decrease in pH, thus reducing the diversity of rhizosphere fungi. At the same time, excessive nitrogen application increased the relative abundance of soil fungal pathogens in the rhizosphere, which was not conducive to soil health and improving potato yield.

**Keywords:** excessive nitrogen fertilizer; potato; fungal community structure in rhizosphere; community diversity; soil-borne disease pathogens

根际是土壤和根之间的界面,是土壤的生物活性区域<sup>[1]</sup>。农业系统中根际微生物群落的多样性受植物类型、土壤类型、农田管理和其它环境因素的影响<sup>[2]</sup>。农田管理如长期连作和施肥等栽培措施,特别是过量施氮肥已成为限制甘肃省马铃薯主产区定西市马铃薯产业可持续发展的主要限制因素<sup>[3]</sup>。在马铃薯种植过程中为了片面追求高产,过量施氮和长期连作现象十分普遍<sup>[4-5]</sup>。过量施氮和长期连作都会导致土壤微生物区系从“细菌型”向“真菌型”转化,最终引发土壤微生物群落结构与组成失衡,导致土壤微生物区系失衡<sup>[3,6]</sup>。定西市集约化种植马铃薯过程中的施氮用量平均为  $230 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ,而马铃薯生产中每形成 1 t 块茎产量,仅需纯氮  $6.5 \pm 1.77 \text{ kg}$ <sup>[3]</sup>。土壤中氮残留量或损失量显著增加,长期连续施用氮肥,将会导致农田土壤中的微生物群落结构遭受破坏<sup>[7-8]</sup>,群落组成发生改变<sup>[9]</sup>。

对于马铃薯来讲,过量施氮和连作均能够引起土壤微生物群落结构的显著变化,使得土壤从抑病型向导病型的方向转变,土传病害滋生,作物长势变差并且大幅度降低农作物的经济产量,而这其中大部分是真菌型的土传病害<sup>[3,10]</sup>。因此,了解土壤真菌群落结构对于农业可持续发展具有十分重要

的理论和实践意义。许多研究证明,土壤类型是影响细菌的最主要因素<sup>[10-11]</sup>,而农田管理是影响真菌的最主要因素<sup>[12-13]</sup>。

目前,有关不同施氮量对微生物群落的影响多侧重于细菌,而对真菌群落结构的影响研究较少。过量施氮和长期连作都是不健康的农田管理,这将会导致植株生长发育受阻,块茎产量和品质下降,特别是土传病害猖獗等一系列的问题,严重影响企业和农民的种植效益。本课题组前期对马铃薯连作与土壤的真菌群落结构之间的相互作用做了大量研究,孟品品等<sup>[5]</sup>研究了马铃薯连作对根际土壤真菌种群结构的影响及其生物效应,结果表明,随着连作年限的增加,马铃薯根际土壤土传病害病原菌尖孢镰刀菌和茄病镰刀菌的数量明显增加。牛秀群等<sup>[14]</sup>研究了马铃薯连作根际土壤镰刀菌分布与马铃薯连作之间的关系,结果显示连作 1~3 a 的优势种均为茄病镰孢。李瑞琴等<sup>[15]</sup>通过荧光定量 PCR 快速检测及在根际的动态变化的研究,结果显示连作 1~5 a 的马铃薯根际土壤茄病镰孢菌和接骨木镰孢菌随连作年限的递增呈现上升趋势,其中连作 5 a 的累积量达到最大。

作物增产的农业措施之一是施用氮肥,而目前在我国粮食生产中存在氮肥用量不足和过量的问

题,这两方面都将会严重阻碍农业的可持续发展进程<sup>[3]</sup>。因此,了解氮肥施用量对土壤微生物群落结构的影响,对于农业可持续发展具有十分重要的理论和实践意义。针对当地因长期过量施氮而导致的诸如立枯病、干腐病和黄萎病等真菌类土传病害严重的现象,将真菌群落结构作为我们研究的重点。因此,本研究利用 Illumina PE250 基因测序,比较连续不同施氮条件下的马铃薯根际真菌群落结构差异,旨在探明和揭示过量氮素施用对半干旱地区马铃薯根际真菌群落结构的影响,为该地区马铃薯生产的可持续发展提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验区概况

田间定位试验始于 2013 年 4 月,试验地位于甘肃省定西市安定区香泉镇,当地地理位置 35°27'7" N, 104°30'34"E, 海拔 2 053~2 556 m。试验地所在区域年均温度 6.9℃, ≥10℃ 的积温为 2 075.1℃, 年降雨量 400 mm 左右,多集中在 7—9 月,无霜期 140 d,蒸发量 1 400 mm 以上,属中温带半干旱气候,土壤类型为黄绵土。

### 1.2 试验设计

本研究共设置 6 个不同的氮用量:N0(对照,不施氮肥)、N75(施氮量为 75 kg·hm<sup>-2</sup>)、N150(150 kg·hm<sup>-2</sup>)、N225(225 kg·hm<sup>-2</sup>)、N300(300 kg·hm<sup>-2</sup>)、N375(375 kg·hm<sup>-2</sup>)。本研究是以当地常规施氮量 225 kg·hm<sup>-2</sup> 为依据,不施氮肥为对照处理,每一处理 4 次重复,随机区组排列,小区面积为 9 m×7.2 m = 64.8 m<sup>2</sup>。每个处理配施等量的磷钾肥,施磷量为 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 225 kg·hm<sup>-2</sup>,施钾量为 K<sub>2</sub>O 292.5 kg·hm<sup>-2</sup>。N 肥为尿素(N, 46%),配施磷肥为过磷酸钙(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 16%),钾肥为硫酸钾镁(K<sub>2</sub>O, 24%)。肥料按小区称重撒施后旋耕,旋耕后起垄。垄宽 60 cm,垄距 60 cm,垄高 20 cm,起垄后覆膜。人工点播的方法播种,宽垄双行,深 10 cm,株距 25 cm,种植密度为 4 450 株·667m<sup>-2</sup>。马铃薯品种是“青薯九号”原种。于 2017 年 5 月 12 日播种,10 月 20 日收获。

### 1.3 土壤样品采集与处理

根际样品在马铃薯成熟期进行采集,采集时间为 2017 年 10 月 18 日。根际土的采集方法:将马铃薯的根完整挖出,先用抖土法抖落掉多余的土后(将附着在根表面不能被抖下来的土视为根际土),装于灭菌后的自封袋内,并于当天带回实验室用灭

菌蒸馏水冲洗(三角瓶内加 40~50 ml 蒸馏水,在摇床上以 200 r·min<sup>-1</sup> 的转速震荡 5~10 min),过滤后用真空泵抽取多余的水分,随后在真空冷冻干燥机冻干,并装于 5 ml 的无菌管中,放置于 -80℃ 冰箱,用于土壤微生物 DNA 的提取。

### 1.4 测定指标及方法

土壤理化性质的测定参照《土壤农化分析》<sup>[16]</sup> 的方法进行测定。速效磷的测定采用钼锑抗比色法;有机质的测定采用重铬酸钾氧化外加热法测定;土壤硝态氮和铵态氮的测定:以 0.01 mol·L<sup>-1</sup> 的 CaCl<sub>2</sub> 溶液浸提,震荡 1 h,后用连续流动分析仪测定;土壤 pH 值测定采用电极法测定。

### 1.5 土壤 DNA 提取及 PCR 扩增

DNA 提取:采用 E. Z. N. A. Soil DNA Kit (OMEGA) 试剂盒进行土壤总 DNA 的提取,每个样品进行 3 次平行 PCR 扩增。在测序前参照电泳初步定量结果,将 PCR 产物用 QuantiFluor<sup>TM</sup>-ST 蓝色荧光定量系统(Promega 公司)进行检测定量,之后按照每个样本的测序量要求,进行相应比例的混合。用 Qubit 2.0 DNA 检测试剂盒对基因组进行 DNA 精确定量,以确定 PCR 反应应加入的 DNA 量。PCR 所用引物序列为 ITS1-F: 5'-CTTGGTCATT-TAGAGGAAGTAA-3' 和 ITS2: 5'-GCTGCGTCT-TCATCGATGC-3', PCR 所用引物为 Miseq 测序平台的通用引物。热启动 PCR 反应体系如下: 5 × FastPfu Buffer 4 μl, 2.5 mM dNTPs 2 μl, Forward Primer (5 μM) 0.8 μl, FastPfu Polymerase 0.4 μl, Template DNA 10 ng, 加去离子水至 20 μl。反应条件如下: 95℃ 5 min 预变性, 95℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 10 min 进行 30 个循环,最后 72℃ 延伸 7 min。PCR 结束后,全部样本按照正式实验条件进行,每个样本 3 个重复,将同一样本的 PCR 产物混合后用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,使用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒 (AXYGEN 公司) 切胶回收 PCR 产物, Tris-HCl 洗脱; 2% 琼脂糖凝胶电泳检测。

PCR 采用 TransGen AP221-02: TransStart Fastpfu DNA Polymerase。PCR 仪: ABI GeneAmp © 9700 型

### 1.6 数据处理

土壤的基本理化性质数据处理及图表绘制采用 Excel 2013 和 Origin 2017 软件, SPSS 23.0 软件进行数据的统计分析。同时运用 R 3.3.1 等相关软件计算土壤真菌群落 Alpha 多样性指数如 Chao 1 指数、Shannon 指数、Simpson 指数等,同时进行根际真菌群落的 Beta 多样性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 连续施用不同氮量对马铃薯根际真菌群落结构的影响

Illumina PE250 测序结果优化后共获得 297623 条有效序列,通过 OTU (Operational taxonomic units) 聚类分析得到 3459 个 OTU;同时检测出根际真菌主要分布在 7 个门,22 个纲,64 个目,158 个科,333 个属,676 个种中。在 97% 相似水平条件下得到土壤真菌多样性指数如表 1 所示。由表 1 可知各处理样本文库覆盖率均大于 99.7%,说明本试验样品取样合理,置信度高、结果可靠,测定结果能够真实地反映各处理根际样本的真菌群落组成。通过对根际

样品中真菌群落的相对丰度指数 (Chao 1) 分析发现,N150 处理 Chao 1 指数为 758.25,显著高于其它施氮处理,过量施氮降低真菌丰富度,N150 处理相比 N0、N75、N225、N300 和 N375 高 36.56%、19.83%、16.79%、1.34%、16.25%。同时通过对根际样品中真菌群落的多样性 (Shannon 和 Simpson) 进行分析,分析结果表明,不同施氮量对土壤真菌群落的多样性影响无显著差异。

为进一步分析不同施氮量对根际真菌群落结构的影响,首先从门水平对真菌群落进行分析。根际样品共检测出 3 个优势门类真菌(相对丰度 > 1.0%),主要由子囊菌门 (Ascomycota)、Mucoromycota 和担子菌门 (Basidiomycota) 组成,如图 1 所示。

表 1 连续施用不同氮量对根际真菌群落相对丰度与多样性的影响

Table 1 Effects of continuous application of different N levels on relative abundance and diversity of rhizosphere fungi community

处理 Treatment	有效序列数/条 Effective reads	OTU 数量/个 OTU/No.	覆盖率 Coverage	多样性指数 Diversity index		
				Chao1	Shannon	Simpson
N0	51455	488	0.9982±0.0006a	555.25±23.01c	4.18±0.18ab	0.0512±0.0073a
N75	48267	541	0.9979±0.0010a	632.75±30.58b	4.20±0.14ab	0.0494±0.0173a
N150	46436	660	0.9972±0.0004a	758.25±14.08a	4.00±0.21b	0.0543±0.0108a
N225	46092	569	0.9978±0.0006a	649.25±22.94b	4.07±0.12ab	0.0473±0.0080a
N300	53014	624	0.9973±0.0011a	748.25±8.96a	4.28±0.09a	0.0565±0.0055a
N375	52359	577	0.9974±0.0011a	652.25±25.32b	4.18±0.09ab	0.0440±0.0040a

注:不同字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ),下同

Note: Different letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ). The same below.

分析结果显示,不同施氮量对根际真菌群落物种组成造成了显著影响。其中子囊菌门的相对丰度最大,占总序列的 75.48% ~ 83.95%; N150 和 N225 处理的子囊菌门相对丰度分别为 83.95% 和 83.24%,显著高于其它处理。同时,子囊菌门相对丰度的变化趋势可以分为低氮量 (N0 和 N75 处理)、中氮量 (N150 和 N225 处理) 和高氮量 (N300 和 N375 处理),中氮量子囊菌门相对丰度分别比低氮和高氮多 8.04% 和 9.54%。这说明适量的氮肥用量可以增加子囊菌门的相对丰度,但过量施氮反而会使其受到抑制。各处理的担子菌门相对丰度分别为 2.10%、6.31%、4.19%、4.23%、5.03% 和 4.31%, N75 处理的担子菌相对丰度显著高于其它处理,施氮量超过  $75 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$  时担子菌的相对丰度呈下降趋势。各处理 Mucoromycota 相对丰度分别为 5.62%、5.62%、6.45%、6.09%、8.09% 和 7.15%,随施氮量的增加呈现递增的趋势。虽然随施氮量的增加促进了马铃薯根际子囊菌门和担子菌门的丰度,但过量施氮会抑制子囊菌和担子菌的生长。

如图 2 所示,土壤中真菌纲水平的优势物纲 (相对丰度 > 1.0%) 主要有粪壳菌纲 (Sordariomyce-

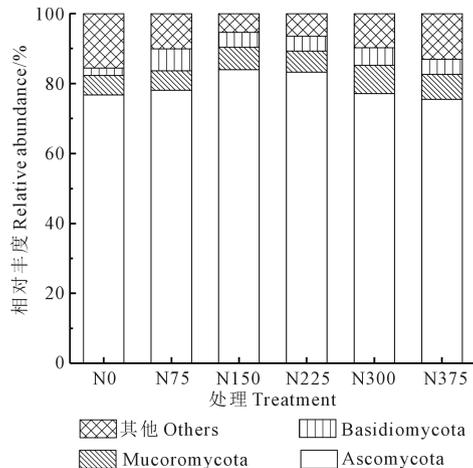


图 1 连续施用不同氮量根际土壤真菌优势门群落组成

Fig.1 Continuous application of different N content in rhizosphere soil fungi phylum community composition

tes)、座囊菌纲 (Dothideomycetes)、银耳菌纲 (Tremellomycetes)、锤舌菌纲 (Leotiomyces)、散囊菌纲 (Eurotiomycetes)、Accomycota-norank 和 Mucoromycota-norank 共 7 个优势纲。研究结果显示粪壳菌纲是子囊菌门的第一大优势类群,其相对丰度为 47.36% ~ 64.12%,在真菌纲中处于最优势菌纲,

随施氮量的增加呈现先增加后降低的趋势, N150 处理相对丰度达到最大。座囊菌纲的变化趋势与粪壳菌纲一致, 相对丰度为 7.16%~11.36%, N150 处理相对丰度达到最大。银耳菌纲相对丰度可以占到所有真菌纲的 3.18%~10.63%, N300 处理相对丰度均达到最大, 结果显示施氮可以增加银耳菌纲的相对丰度, 过量施氮则会受到抑制。锤舌菌纲的相对丰度为 0.89%~2.37%, N0 处理高于其它处理, 与 N0 相比各施氮处理分别降低了 47.79%、62.56%、29.72%、51.46% 和 61.81%, 说明随着施氮量的增加锤舌菌纲相对丰度呈下降趋势。

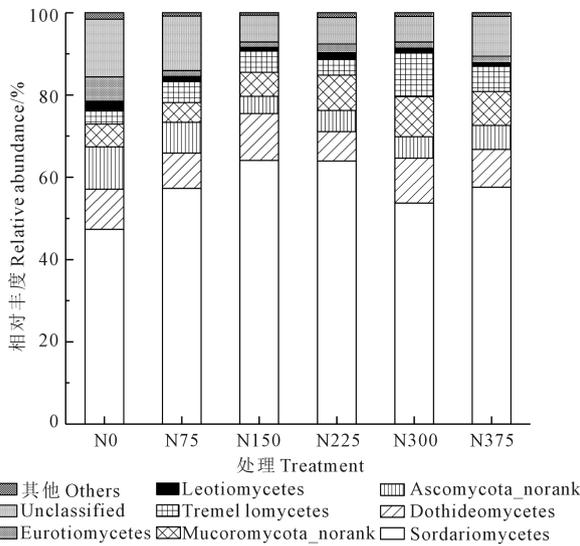


图 2 不同施氮量处理纲水平下土壤真菌优势群落组成  
Fig.2 Composition of class community of soil fungi under different levels of N application

进一步从根际真菌属的角度分析不同施氮量对真菌群落结构的影响, 结果如表 2 所示。供试土壤样品共检测出 13 个优势属(相对丰度 > 1.0%)。其中 *Plectosphaerella*、镰刀菌属(*Fusarium*)、梭孢壳属(*Thielavia*)、短梗蠕孢属(*Trichocladium*)、枝孢属(*Cladosporium*)、*Paramyrothecium*、四枝孢菌属(*Tetraccladium*)、链格孢属(*Alternaria*)、毛壳菌属(*Chaetomium*)、*Lectera*、枝顶孢属(*Acremonium*) 属于子囊菌门; 被孢霉属(*Mortierella*) 属于 *Mucoromycota* 门; *Vishniacozyma* 属于担子菌门。

由表 2 可知, 过量施氮显著增加 *Fusarium* (镰刀菌属) 的相对丰度, 且 N375 处理达到最大, 其相对丰度为 13.54%, 显著高于 N75 处理的相对丰度 (8.38%), N0 处理的相对丰度为 9.63%。且 N375 和 N0 处理的镰刀菌属丰度相比 N75 处理多 61.58% 及 14.91%, 结果表明低氮量和高氮量增加了镰刀菌

属的丰度。*Alternaria* (链格孢属) 各处理的相对丰度分别为 1.89%、1.39%、1.17%、0.70%、1.07% 和 1.80%, N225 处理的丰度最低, N0 和 N375 处理的链格孢属相对丰度分别是 N225 处理的 2.70、2.57 倍。据报道, 镰刀菌属和链格孢属是引起植物破坏性病害的主要病原真菌<sup>[17-18]</sup>, 以上结果说明过低或过高的施用氮肥会加剧镰刀属和链格孢属的相对丰度, 病原菌的增加对马铃薯生产不利, 影响马铃薯的产量, 造成经济收益下降。随施氮量的增加能产生脂肪酸等有机化合物的被孢霉属(*Mortierella*) 也明显增加, 其相对丰度分别为 5.59%、4.81%、5.79%、8.55%、9.71% 和 8.24%, 且 N75、N150、N225、N300 以及 N375 处理比 N0 处理增加了 -13.95%、3.58%、52.95%、73.70% 及 47.41%。由于被孢霉属可以产生有机酸, 结果可能导致根际土壤酸化。

## 2.2 连续施用不同氮量对土壤理化性质的影响

连续施用不同氮量对马铃薯土壤理化性质产生了显著影响, 在大量的试验数据中, 我们选取了硝态氮、铵态氮、pH 值、有效磷和有机质以展开进一步的分析, 详细结果如表 3 所示。分析结果显示, 随着施氮量的增加土壤中  $\text{NO}_3^-$ -N 含量呈现增加的趋势, 在 N375 处理  $\text{NO}_3^-$ -N 含量达到最大, 为  $21.90 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 并且显著高于其它处理, N75、N150、N225、N300 和 N375 处理分别是 N0 处理的 1.24、1.70、1.94、2.98 倍和 3.76 倍。随着施氮量的增加土壤中  $\text{NH}_4^+$ -N 含量与  $\text{NO}_3^-$ -N 含量变化趋势一致。结果说明连续施用氮肥显著提高了土壤中的矿质氮含量。由表 3 可知, 随着施氮量的增加土壤 pH 值呈现下降的趋势, 各施氮处理分别比 N0 降低了 0.06、0.07、0.08、0.15 和 0.17 个单位。土壤 pH 值结果说明, 长期大量的连续使用氮肥, 已导致土壤 pH 值下降。因此, 在农田管理过程中不宜大量的施用氮肥。

由表 3 数据可以看出, 施氮量对表层速效磷含量的变化有显著影响。随施氮量增加速效磷含量呈现降低的趋势, N0 处理速效磷含量显著高于其他处理, 与 N0 相比其它施氮处理分别降低了 7.34%、18.31%、26.19%、29.68% 和 32.10%。可能的原因是随着施氮量的增加提高了马铃薯的生长发育以及其对磷素的需求, 从土壤中吸收磷素也就更多, 显著降低了速效磷含量。连续 5 a 施用不同氮量的研究发现, 与 N0 相比, 本研究中随着施氮量的增加土壤的有机质的含量稍有提高, 然而不同的施氮处理对土壤有机质的影响差异不显著。

表 2 连续施用不同氮量处理属水平下根际真菌优势群落组成及相对丰度

Table 2 Composition and relative abundance of genus communities of rhizosphere fungi under continuous application of different N application rates

真菌 Fungi	N0	N75	N150	N225	N300	N375
<i>Plectosphaerella</i>	14.44±8.29b	21.71±4.78ab	29.92±8.11a	16.21±2.57b	16.61±2.68b	18.55±5.48b
<i>Fusarium</i>	9.63±1.96ab	8.38±1.88b	9.34±2.58ab	8.55±3.26b	9.00±3.34ab	13.54±3.56a
<i>Thielavia</i>	8.07±3.70b	5.37±4.29b	8.35±3.64b	20.95±7.74a	8.29±6.75b	5.30±1.52b
<i>Trichocladium</i>	6.84±4.05a	4.93±3.01ab	2.26±1.02b	2.95±0.51ab	3.67±0.58ab	3.94±2.68ab
<i>Mortierella</i>	5.59±1.03ab	4.81±1.65b	5.79±1.44ab	8.55±4.99ab	9.71±3.37a	8.24±2.68ab
<i>Cladosporium</i>	5.50±4.47a	6.04±2.38a	7.29±6.64a	4.38±2.22a	7.51±5.78a	5.16±2.45a
<i>Paramyrothecium</i>	3.09±1.4a	2.62±1.56a	2.23±0.69a	2.42±1.35a	1.49±0.70a	1.89±0.76a
<i>Tetracladium</i>	2.81±1.65a	2.51±2.25a	1.89±1.73a	2.09±2.48a	1.46±0.80a	1.80±1.03a
<i>Alternaria</i>	1.89±0.43a	1.39±0.51abc	1.17±0.10bcd	0.70±0.03d	1.07±0.31cd	1.80±0.69ab
<i>Vishniacozyma</i>	1.66±2.46a	1.01±0.23a	1.42±0.36a	1.06±0.65a	1.86±1.89a	1.86±1.99a
<i>Chaetomium</i>	1.60±0.56a	1.5±0.84a	1.11±0.27a	1.36±0.25a	1.72±0.72a	3.60±4.70a
<i>Lectera</i>	1.43±1.47a	7.16±2.89a	7.11±4.33a	5.99±7.62a	5.09±3.07a	3.58±2.31a
<i>Acremonium</i>	1.29±1.50a	1.13±0.17a	1.37±0.67a	1.10±0.32a	1.48±0.82a	1.2±0.26a

表 3 连续施用不同氮量对土壤理化性质的影响

Table 3 Effects of continuous N application on soil physicochemical properties

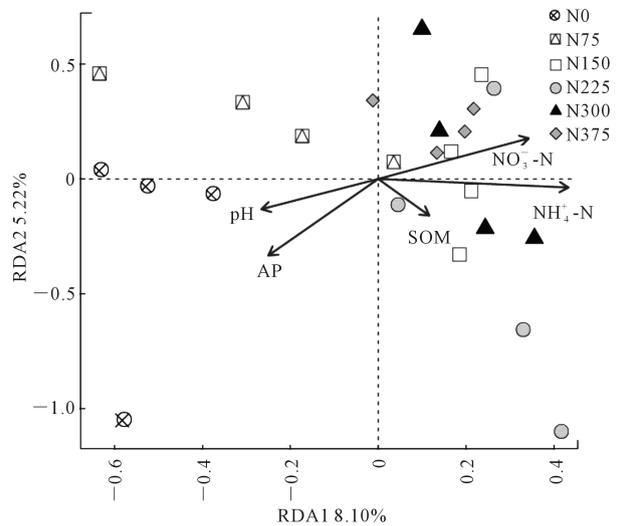
处理 Treatment	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N 含量 Nitrate N content /(mg·kg <sup>-1</sup> )	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N 含量 Ammonium N content /(mg·kg <sup>-1</sup> )	pH	有机质 SOM /(g·kg <sup>-1</sup> )	速效磷 Avail. P /(mg·kg <sup>-1</sup> )
N0	5.82±0.42d	0.61±0.09d	8.20±0.03a	17.06±0.13a	32.99±1.52a
N75	7.23±0.62d	0.62±0.08d	8.14±0.01a	17.61±0.19a	30.57±1.35ab
N150	9.88±0.47c	1.60±0.03ab	8.13±0.01ab	18.02±0.40a	26.95±0.7abc
N225	11.29±0.89c	1.14±0.23c	8.12±0.03ab	17.98±0.07a	24.35±1.53bc
N300	17.32±0.66b	1.25±0.10bc	8.05±0.02bc	17.25±0.23a	23.2±5.15bc
N375	21.90±0.59a	1.69±0.07a	8.03±0.04c	17.64±0.50a	22.4±0.94c

### 2.3 真菌群落与土壤理化性质的冗余分析(RDA)

为进一步了解环境因素对根际真菌群落结构的影响,将真菌群落的变化与环境因子如有机质(SOM)、pH值、速效磷(AP)、硝态氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)和铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)之间进行了冗余分析(RDA),结果如图3所示。真菌群落结构差异在两个排序轴上的解释率分别为8.10%、5.22%,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N和NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N呈正相关,而pH值和AP呈负相关关系,同时从图中可以看出,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N指向了N150、N225、N300和N375四个处理的真菌群落。判断排序的结果可以接受环境因子对物种分布的解释量的结果显示,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N是影响根际真菌群落变化的主要因子( $F = 1.571, P = 0.043^*$ )。

### 2.4 真菌群落结构的变化与土壤理化性质的相关性分析

为进一步确定影响真菌的优势菌群的环境因子,将部分土壤理化性质与根际真菌群落结构的分布进行Spearman相关性分析,结果见表4、表5和表6。分析结果显示真菌群落结构在门水平、纲水平和属水平上与NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N含量具有显著相关性,与AP呈显著正相关的真菌优势菌群为链格孢属(*Alternaria*),与pH和AP呈显著负相关同时与NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N含量呈显著正相关的真菌优势菌群有Mucoromycota\_norank和被孢霉属(*Mortierella*)。而粪壳菌纲(Sordariomycetes)和镰刀菌属(*Fusarium*)仅与AP含量显著负相关。



注:SOM, AP, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 分别代表土壤有机质,速效磷,硝态氮含量,铵态氮含量;P值通过999次置换检验得出,显著性标记为\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ 。

Note: SOM, AP, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, and NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N represent soil organic matter, available phosphorus, nitrate N content, ammonium N content; P value was obtained by 999 replacement tests. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ 。

图3 土壤真菌与环境因子之间的RDA分析

Fig.3 RDA analysis between soil fungi and environmental factors

### 2.5 连续施用不同氮量处理对马铃薯产量的影响

氮素是马铃薯产量形成的关键限制因子,通过实际测产,马铃薯块茎产量结果如图4所示。分析结果显示,N75处理马铃薯产量最高,为26410 kg

· hm<sup>-2</sup>, 与 N75 相比, N0、N150、N225、N300、N375 的块茎产量分别降低了 7.58%、3.46%、22.81%、26.05% 和 25.32%。结果说明, 随施氮量的增加马铃薯块茎产量并不会随之升高, 过量的施用氮肥反而会导致马铃薯产量下降, 造成严重的氮肥资源浪费。

通过对马铃薯产量与土壤的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、pH、有机质和速效磷的相关性分析, 结果如表 7 所示。结果显示, 马铃薯产量与 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 呈极显著负相关关系 ( $P < 0.01, r = -0.578$ ), 与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量呈显著负相关关系 ( $P < 0.05, r = -0.437$ ), 与土壤 pH 值呈极显著正相关关系 ( $P < 0.01, r = 0.556$ ), 与有机质和

表 4 真菌优势菌群与土壤理化性质之间的相关性分析 (门水平)

Table 4 Spearman's correlation coefficients between soil characteristics and fungi relative abundance (phyla)

真菌 Fungi	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	pH	有机质 SOM	速效磷 Avail. P
Ascomycota	-0.183	0.182	0.293	0.225	0.150
Basidiomycota	0.279	0.199	-0.220	0.053	-0.384
Mucoromycota	0.507*	0.189	-0.494*	-0.264	-0.160

注 Note: \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ . 下同 The same below.

表 5 真菌优势菌群与土壤理化性质之间的相关性分析 (纲水平)

Table 5 Spearman's correlation coefficients between soil characteristics and fungi relative abundance (class)

真菌 Fungi	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	pH	有机质 SOM	速效磷 Avail. P
Sordariomycetes	0.191	0.287	-0.217	0.151	-0.514*
Dothideomycetes	0.053	-0.008	-0.038	-0.100	0.170
Ascomycota_norank	-0.410*	-0.326	0.249	-0.100	0.237
Mucoromycota_norank	0.555**	0.337	-0.521**	-0.016	-0.410*
Tremellomycetes	0.253	0.183	-0.228	0.092	-0.097
Leotiomycetes	-0.287	-0.483*	0.329	-0.131	0.230
Eurotiomycetes	-0.075	-0.269	0.081	0.137	0.062

表 6 真菌优势菌群与土壤理化性质之间的相关性分析 (属水平)

Table 6 Spearman's correlation coefficients between soil characteristics and top 10 relative fungi abundance (genus)

真菌 Fungi	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	pH	有机质 SOM	速效磷 Avail. P
Plectosphaerella	0.131	0.382	-0.173	0.099	-0.324
Fusarium	0.217	0.369	-0.200	-0.277	-0.457*
Thielavia	0.012	-0.047	0.174	0.190	0.090
Trichocladium	-0.203	-0.148	0.022	-0.069	0.162
Mortierella	0.555**	0.337	-0.521**	-0.016	-0.410*
Cladosporium	0.065	-0.061	-0.029	-0.058	0.184
Paramyothecium	-0.383	-0.388	0.319	0.058	0.165
Tetracladium	-0.251	-0.246	0.305	-0.181	0.028
Alternaria	-0.218	-0.064	0.129	-0.116	0.422*
Vishniacozyma	0.170	0.272	-0.124	0.042	-0.083

速效磷则没有显著的相关性。这说明 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量的增加以及 pH 值下降导致了马铃薯产量降低。

### 3 讨论

#### 3.1 连续施用不同氮量对土壤理化性质和马铃薯产量的影响

本研究结果显示, 随着施氮量的增加显著降低了土壤 pH 值, 这主要是因为尿素施入土壤后, 在脲酶作用下先将酰胺态氮水解生成 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 然后在硝化作用下将 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 转化成 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 而硝化过程中会产生大量的 H<sup>+</sup>, 使土壤 pH 值下降<sup>[19]</sup>。有研究表明, 随着施氮量的增加, 浅层土壤的硝态氮含量显著增加, 当施氮量高于 207 kg · hm<sup>-2</sup> 时, 随着施氮量增加土壤 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的积累量显著增加<sup>[20]</sup>, 这与本研究结果基本一致, 其原因是在硝化作用下氨态氮向硝态氮转化, 使土壤中硝态氮含量大量富集。Wang Qi 等<sup>[21]</sup> 的研究表明, 在有限的灌溉条件下, 当施氮量为 221 kg · hm<sup>-2</sup> 时表层土壤 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 积累量增加, 当施氮量增加至 300 kg · hm<sup>-2</sup> 时, 0~200 cm 土层中土壤 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 积累量显著增加。

我国在有限的土壤上投入大量的化肥, 与迅速增长的化肥施用量相比, 作物产量并没有达到预期的结果<sup>[22]</sup>。本研究中, N0 处理的马铃薯产量为 24 408 kg · hm<sup>-2</sup>, 然而, 当施氮量为 75 kg · hm<sup>-2</sup> 时, 产量为 26 410 kg · hm<sup>-2</sup>, 仅提高了 8.20%。与 N75 相比, N150、N225、N300 和 N375 产量分别降低了 3.46%、

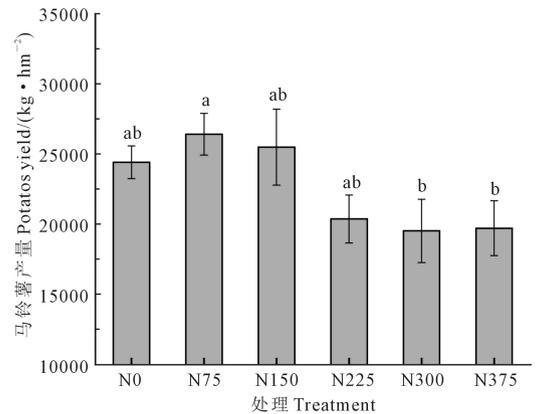


图 4 连续施用不同氮量对马铃薯块茎产量的影响

Fig.4 Effects of continuous application of different nitrogen rates on potato tuber yield

表 7 Spearman 相关性分析

Table 7 Spearman's correlation analysis

项目 Item	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	pH	有机质 SOM	速效磷 Avail. P
产量 Yield	-0.578**	-0.437*	0.556**	-0.156	0.305

22.81%、26.05%和25.32%,随着施氮量的增加,马铃薯的产量并没有持续增加。对于马铃薯来讲,过量施氮和连作均能够引起土壤微生物群落结构的显著变化,使得土壤从抑病型向导病型的方向转变,土传病害滋生,作物长势变差并且大幅度降低农作物的经济产量<sup>[23]</sup>。因此,本研究结果表明,连续大量施氮不利于马铃薯高产。

### 3.2 连续施用不同氮量对马铃薯根际真菌 Alpha 多样性和群落结构的影响

本研究结果显示,过量施氮会降低马铃薯根际真菌群落多样性,这与 Biotechnology<sup>[24]</sup> 和 Vandenkoornhuysen<sup>[25]</sup> 等的研究结果基本一致。但也有研究<sup>[26]</sup>发现,长期施用氮肥会增加真菌群落的多样性,究其原因可能是因为在土壤营养物质增加时,丰富类群能利用有效碳源快速生长,因此可以在较高氮含量的环境下较好地生长繁殖,而贫瘠类群在环境中生长速度较低,吸收营养物质的能力较弱,因此在营养物质较高时,这些贫瘠类群与丰富类群相比竞争力较弱,不能良好生长繁殖<sup>[27]</sup>,导致其数量下降。

马铃薯根际真菌群落结构主要由子囊菌门、Mucoromycota 和担子菌门构成,这与季凌飞等<sup>[28]</sup>、陈丹梅等<sup>[29]</sup>、Hedlund K 等<sup>[30]</sup>在茶园土壤、植烟土壤和南方典型水稻土壤的研究结果相一致。有研究发现,子囊菌门的生长与氮素的含量有关<sup>[31]</sup>。Wang 等<sup>[32]</sup>研究发现,过高的氮素对子囊菌门的生长有害。长期大量施氮可能会促使根际真菌群落多样性降低,群落结构主要朝子囊菌, Mucoromycota 和担子菌三个方向演替。本研究发现,适量施氮(N150 和 N225)条件下子囊菌门的相对丰度为83.95%和83.24%,显著高于其他处理,说明适量的施用氮肥可以增加子囊菌门的丰度,但当施氮量过低或过高时不利于子囊菌的生长。Paungfoo-Lonhienne 等<sup>[33]</sup>在甘蔗根际和土壤中研究结果显示,与低氮处理相比,高氮肥条件下真菌群落子囊菌的相对丰度通常较高,而担子菌较低,增加氮肥会改变真菌群落的组成,并且通过促进病原真菌,可能对植物健康产生负面的影响。

本研究中子囊菌门的群落构成与 Sun 等<sup>[26]</sup>在不同施肥模式的旱地土壤中的结果相一致,子囊菌门的优势种群是粪壳菌纲(Sordariomycetes)。Sordariomycetes 纲是马铃薯根际真菌的优势物种,表明连续施用不同氮量可能会导致根际真菌群落组成的差异。Sordariomycetes 纲的相对丰度为47.36%~64.12%,该类群中的肉座菌目(Hypocreales)、Hypocreales 和散囊菌目(Eurotiales)和散囊菌纲(Eurotiomycetes)等大多数物种有研究被证实具有产生 N<sub>2</sub>O 的

能力<sup>[34]</sup>。众所周知,N<sub>2</sub>O 是一种潜在的温室气体,而且还能够破坏大气中的臭氧层<sup>[35]</sup>。因此增加施氮量将会促进 Sordariomycetes 真菌微生物的繁殖,进一步促进 N<sub>2</sub>O 的产生。N0 处理土壤中锤舌菌纲(Leotiomycetes)数量最高且显著高于其它施氮处理,与 N0 相比 N75~N375 处理分别降低了47.79%、62.56%、29.72%、51.46%和61.81%。不同氮肥处理的锤舌菌纲类群中75.33%~86.08%的类群属于柔膜菌目(Helotiales),此类群真菌多数是根际真菌,能够为宿主植物提供养分,帮助其固定有机物等营养物质<sup>[36]</sup>,本研究结果显示,该类真菌的数目随施氮量的增加而降低。Dean 等<sup>[37]</sup>也曾报道过类似的结果,它们丰度的降低预示着高氮环境中真菌与作物的共生关系将会减弱。

在优势属水平细菌的分析结果中发现,长期连续施用氮肥过程中低氮量和高氮量显著增加了 *Fusarium*(镰刀菌属)的丰度,N375 处理和 N0 处理的镰刀菌属丰度相比 N75 处理多61.58%及14.91%。这个结果与孟品品等<sup>[5]</sup>、牛秀群等<sup>[14]</sup>的研究结论相符。孟品品等<sup>[5]</sup>研究表明随着连作年限的增加,马铃薯收获期根际土壤土传病害病原菌尖孢镰刀菌和茄病镰孢菌的数量明显增加。牛秀群等<sup>[14]</sup>研究认为在1~3 a 连作中,随着连作年限的增加,马铃薯根茬中分离的镰刀菌数量呈上升趋势。据资料显示,马铃薯连作导致土壤微生物群落结构显著改变,病原菌成为优势种群,比如 *Rhizoctonia solani* 和 *Fusarium sp.* 等土传病原真菌的数量显著增加,导致病害大面积发生,块茎产量降低<sup>[38-40]</sup>。健康的微生物区系是高产高效土壤的重要特征,同时具有抑制土传病害的作用<sup>[41]</sup>。因此,连续长期大量施氮可能会抑制土壤中有益真菌微生物群落的生长,对土壤健康造成负面影响。结果表明,增加施氮量将会改变真菌群落的组成,并且通过促进致病真菌群落的丰度,可能对植物健康产生负面影响。

## 4 结 论

本研究结果表明,长期大量施氮使马铃薯根际硝态氮大量积累,且氮肥过量施用降低了土壤 pH 值,进而改变了根际真菌群落结构,过量施氮使真菌群落丰富度及多样性降低,RDA 及相关性分析结果表明硝态氮含量是影响真菌群落结构变化的主要理化因子。长期过量施氮增加了根际土壤真菌病原菌的相对丰度,可能会加剧植物病害以及危害土壤健康,同时过量施氮导致了马铃薯产量下降。因此,大量施氮不利于马铃薯产量的增加和根际土壤真菌生态系统的平衡。

## 参考文献:

- [1] Singh B K, Millard P, Whiteley A S, et al. Unravelling rhizosphere-microbial interactions: opportunities and limitations [J]. Trends in Microbiology, 2004, 12(8):386-393.
- [2] Özgünlüoğlu, Salles J F, Elsas J D V. Soil and cultivar type shape the bacterial community in the potato rhizosphere[J]. Microbial Ecology, 2012, 63(2):460-470.
- [3] 张健. 连续施氮对土壤氨氧化菌及细菌群落结构的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2018.
- [4] 何昌福, 张健, 邱慧珍, 等. 不同氮水平对旱地覆膜马铃薯“青薯9号”干物质积累分配及产量的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2017, 52(2):19-26.
- [5] 孟品品, 刘星, 邱慧珍, 等. 连作马铃薯根际土壤真菌种群结构及其生物效应[J]. 应用生态学报, 2012, 23(11):3079-3086.
- [6] 薛超. 香蕉根际土壤微生物区系特征与土传枯萎病防控研究[D]. 南京:南京农业大学, 2015.
- [7] Geisseler D, Scow K M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms - a review [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 75(8):54-63.
- [8] 王澍, 芮蕊, 樊国盛, 等. 不同氮肥对番茄根际土壤真菌多样性的影响[J]. 西部林业科学, 2012, 41(3):48-52.
- [9] 于海玲. 施氮量对土壤微生物群落组成特征的影响研究[D]. 长春:吉林农业大学, 2016.
- [10] Girvan M S, Bullimore J, Pretty J N, et al. Soil Type is the primary determinant of the composition of the total and active bacterial communities in Arable soils [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(3):1800-1809.
- [11] Enwall K, Nyberg K, Bertilsson S, et al. Long-term impact of fertilization on activity and composition of bacterial communities and metabolic guilds in agricultural soil [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2007, 39(1):106-115.
- [12] Wakelin S A, Macdonald L M, Rogers S L, et al. Habitat selective factors influencing the structural composition and functional capacity of microbial communities in agricultural soils [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2008, 40(3):803-813.
- [13] 毕明丽, 宇万太, 姜子绍, 等. 施肥和土壤管理对土壤微生物生物量碳、氮和群落结构的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(1):32-42.
- [14] 牛秀群, 李金花, 张俊莲, 等. 甘肃省干旱灌区连作马铃薯根际土壤中镰刀菌的变化[J]. 草业学报, 2011, 20(4):236-243.
- [15] 李瑞琴, 刘星, 邱慧珍, 等. 连作马铃薯根际干腐病优势病原菌荧光定量 PCR 快速检测及在根际的动态变化[J]. 草业学报, 2013, 22(6):239-248.
- [16] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京:中国农业出版社, 2000.
- [17] 张向民. 镰刀菌属分类学研究历史与现状[J]. 菌物研究, 2005, 3(2):59-62.
- [18] 万佐玺, 强胜, 李扬汉. 链格孢菌寄生选择性毒素的研究现状[J]. 湖北民族学院学报(自然科学版), 2001, 19(4):19-22.
- [19] 赵晶, 冯文强, 秦鱼生, 等. 不同氮磷钾肥对土壤 pH 和镉有效性的影响[J]. 土壤学报, 2010, 47(5):953-961.
- [20] 蒋会利, 温晓霞, 廖允成. 施氮量对冬小麦产量的影响及土壤动态氮运转特性[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(1):237-241.
- [21] Wang Q, Li F, Zhao L, et al. Effects of irrigation and nitrogen application rates on nitrate nitrogen distribution and fertilizer nitrogen loss, wheat yield and nitrogen uptake on a recently reclaimed sandy farmland [J]. Plant and Soil, 2010, 337(1-2):325-339.
- [22] 杨场. 施氮量对马铃薯根际土壤生物活性及晚疫病发生程度的影响[D]. 大庆:黑龙江八一农垦大学, 2014.
- [23] 刘星, 张文明, 张春红, 等. 土壤灭菌-生物有机肥联用对连作马铃薯及土壤真菌群落结构的影响[J]. 生态学报, 2016, 36(20):1-14.
- [24] Lynd L R, Weimer P J, Van zyl W H, et al. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2002, 66(3):506-577.
- [25] Vandenkoornhuysen P, Baldauf S L, Leyval C, et al. Extensive fungal diversity in plant roots [J]. Science, 2002, 295:2051.
- [26] Sun R, Dsouza M, Gilbert J A, et al. Fungal community composition in soils subjected to long-term chemical fertilization is most influenced by the type of organic matter [J]. Environmental Microbiology, 2016, 18(12):5137-5150.
- [27] Craine J M, Morrow C, Fierer N. Microbial Nitrogen Limitation Increases Decomposition[J]. Ecology, 2007, 88(8):2105-2113.
- [28] 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):1-9.
- [29] 陈丹梅, 段玉琪, 杨宇虹, 等. 长期施肥对植烟土壤养分及微生物群落结构的影响[J]. 中国农业科学, 2014(17):3424-3433.
- [30] Hedlund K. Soil microbial community structure in relation to vegetation management on former agricultural land [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(9):0-1307.
- [31] Fontaine S, Henault C, Bdioui N, et al. Fungi mediate long term sequestration of carbon and nitrogen in soil through their priming effect [J]. Soil biology & biochemistry, 2011, 43(1):86-96.
- [32] Wang J T. 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 & Sediments, 2015, 15(5):1224-232.
- [33] Paungfoo-Lonhienne C, Yeoh Y K, Kasinadhuni N R P, et al. Nitrogen fertilizer dose alters fungal communities in sugarcane soil and rhizosphere [J]. Scientific Reports, 2015, 5(3):8678.
- [34] 李迅, 胡沂淮, 裴建军, 等. 分子生物学技术在担子菌中的研究进展[J]. 中国食用菌, 2003, 22(4):6-8.
- [35] Dean R A, Rizzo C J, Beló André, et al. Transcriptome profiling of the rice blast fungus during invasive plant infection and in vitro stresses [J]. BMC Genomics, 2011, 12(1):1-20.
- [36] Upton R, Read D J, Newsham K K. Nitrogen form influences the response of *Deschampsia antarctica* dark septate root endophytes [J]. Mycorrhiza, 2009, 20(1):1-11.
- [37] Dean S L, Farrer E C, Taylor D L, et al. Nitrogen deposition alters plant-fungal relationships: linking belowground dynamics to aboveground vegetation change [J]. Molecular Ecology, 2014, 23(6):1364-1378.
- [38] 李瑞琴, 刘星, 邱慧珍, 等. 发生马铃薯立枯病土壤中立枯丝核菌的荧光定量 PCR 快速检测[J]. 草业学报, 2013, 22(5):136-144.
- [39] 刘星, 邱慧珍, 王蒂, 等. 甘肃省中部沿黄灌区轮作和连作马铃薯根际土壤真菌群落的结构差异评估[J]. 生态学报, 2015, 35(12):3938-3948.
- [40] 牛秀群, 李金花, 张俊莲, 等. 甘肃省干旱灌区连作马铃薯根际土壤中镰刀菌的变化[J]. 草业学报, 2011, 20(4):236-243.
- [41] Li C, Li X, Kong W, et al. Effect of monoculture soybean on soil microbial community in the Northeast China [J]. Plant and Soil, 2010, 330(1-2):423-433.