

稻田垄作免耕对土壤真菌多样性分布的影响^①

胡 宇, 蒋先军*, 田 波, 李 航

(西南大学资源与环境学院, 重庆 400715)

摘 要: 在水田长期垄作免耕处理下, 研究了土壤真菌多样性及其在不同大小团聚体中的分布。结果表明, 垄作免耕处理下, 耕层土壤中, 真菌主要分布于粒级为 1.0~0.25 mm 的土壤团聚体中, 同时在 >0.053 mm 的各级土壤团聚体中垄作免耕处理下真菌数量多于常规轮作处理; 垄作免耕处理的各级土壤团聚体中都有毛霉和根霉存在, 且 1.0~0.25 mm 土壤团聚体中属类最丰富, 其 Simpson 多样性指数为 0.93, Shannon 多样性指数为 1.24, 常规轮作下属类丰度没有明显变化。稻田垄作免耕提高了不同团聚体中真菌的数量、多样性, 改变了真菌在不同大小团聚体中的分布状况。

关键词: 免耕; 微生物量; 团聚体

中图分类号: S158.5

土壤是微生物生活的良好场所, 微生物在土壤养分转化与腐殖质形成过程中有着重要作用^[1]。其中真菌在一些重要的生物化学过程如氨化、硝化、氮转化、纤维素分解、腐殖质化中起着重要作用, 而对真菌的多样性及其在不同大小土壤团聚体中的分布研究有助于了解这些过程。大小不同的团聚体, 微生物量分布有很大的差异并且其群落结构也明显不同, 大团聚体比小团聚体含有更多的微生物量, 大团聚体中真菌生物量明显比细菌高、并且真菌生物量与大团聚体数量有显著的相关性^[2]。本文在水田长期垄作免耕处理下, 研究土壤真菌多样性及其在不同团聚体中的分布, 并结合养分状况来探讨其作用机理。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验地点设在重庆市北碚区西南农业大学试验农场, 1990 年开始建立的中性紫色土不同耕作制度的长期定位试验点。试验共设 2 个处理: ①垄作免耕 (combining ridge and no-tillage, RNT), 中稻-油菜轮作, 全年不翻不耕。②常规轮作 (conventional paddy-upland rotation, PUR), 中稻-油菜轮作。分析样品于 2006 年 3 月 18 日采集, 每个小区按“S”形选取 4~5 个点, 采集表层土壤, 其中垄作免耕只取垄埂土壤, 采回样品保存于 4℃的冰箱中。

1.2 试验方法

1.2.1 样品的制备 土样制备采用湿筛法^[3], 筛分

的粒级为: 2.0~1.0 mm, 1.0~0.25 mm, 0.25~0.053 mm, <0.053 mm。将盛有 10 g 土样和 100 ml 灭菌水的三角瓶放在振荡机上振荡 10 min, 使土样均匀地分散在稀释液中成为土壤悬液。土壤分散后, 吸取 1 ml 土悬液到 9 ml 稀释液中, 依次按 10 倍法稀释, 真菌所取土壤悬液稀释倍数为 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 。

1.2.2 真菌的分离与鉴定 真菌的分离采用 Martin 培养基^[4], 土壤悬液的接种方法采用刮刀法。真菌分离后纯化, 将菌种接种到 Czapek 培养基平板中, 同时对霉菌做插片, 25~28℃培养 3~5 天后, 将新的菌种分别制作水浸片, 镜检并观察其形态特征确定其类别。鉴定根据中国真菌鉴定手册。

1.2.3 真菌计数并选择优势属 ①真菌计数采用稀释平板法^[5]; ②分离频率 (isolation frequency) = 每土样每种菌的分离数/土样总菌数; ③种类多样性 (species diversity) Shannon 多样性指数 $H = -\sum p_i \log p_i$ (p_i 为分离频率); Simpson 多样性指数 $D = 1 / \sum p_i^2$ ^[6-7]。

1.2.4 全 N、全 P、全 K 及有机质的测定 全 N 采用半微量开氏法测定; 全 P 采用 NaOH 熔融法前处理, 钼蓝比色法测定; 全 K 采用火焰光度计法测定; 有机质采用重铬酸钾容量法测定^[6]。

1.3 数据处理

数据处理采用方差分析, 在 SPSS 软件上完成。

2 结果与分析

2.1 不同耕作方式下土壤真菌在土壤团聚体中的分布

①基金项目: 国家自然科学基金 (40501033) 和中国博士后基金 (20060390683) 资助。

* 通讯作者 (jiangxianjun@swau.edu.cn)

作者简介: 胡宇 (1978—), 男, 贵州从江人, 硕士研究生, 主要从事土壤生态研究。E-mail: human_99@163.com

不同耕作方式下土壤真菌在土壤团聚体中的分布如图 1 所示。免耕条件下 2.0~1.0 mm、1.0~0.25 mm、0.25~0.053 mm 粒级中土壤真菌的数量比常规轮作处理分别增加 97%、14% 和 28%，而在<0.053 mm 粒级中则减少了 31%。除了<0.053 mm 粒级，垄作免耕条件下土壤真菌的数量显著大于常规轮作条件下的真菌数量，而在不同大小团聚体中其增加的幅度并不一致，在 2.0~1.0 mm 粒级增加的量显著高于其他粒级。在常规轮作下，1.0~0.25 mm 与<0.053 mm 团聚体比 2.0~1.0 mm 与 0.053~0.25 mm 团聚体的土壤真菌的数量

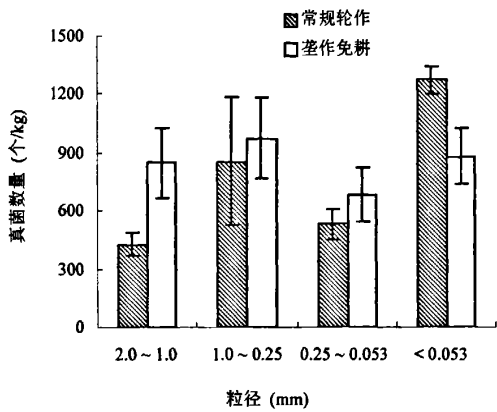


图 1 不同耕作方式下不同粒级土壤团聚体中真菌群落
的数量分布（误差线表示标准差）

Fig. 1 Distribution of fungi in different sizes of soil aggregates
under different tillage

大，而在垄作免耕条件下这种差距被缩小。以上结果表明，免耕不仅使真菌数量增加，而且使真菌在各粒级团聚体中分布趋于均一。

2.2 不同耕作方式下土壤真菌多样性及其分布

不同耕作方式下土壤真菌群落的构成见表 1。从表 1 可见，常规轮作处理的土壤中，表土层真菌群落鉴别到 8 个属。其中在土壤团聚体为 2.0~1.0 mm 时仅鉴别到 4 个属，又以裂殖酵母属为优势属，分离频率为 40.3%；1.0~0.25 mm 的土壤团聚体的 4 个属中以青霉属为优势属，分离频率为 53.8%；而在 0.25~0.053 mm 的土壤团聚体中主要鉴别到的是霉菌，以毛霉属占优势，其分离频率是 9.7%；<0.053 mm 的土壤团聚体中各属差别则不是很显著，以裂殖酵母属占优势，其分离频率是 5.6%。在 2.0~1.0 mm 与<0.053 mm 的土壤团聚体中优势属相同，但其分离频率却有很大差异。从表中还可以看出在<0.053 mm 的土壤团聚体中出现了其他粒级团聚体中未发现的假丝酵母属。

垄作免耕处理的土壤中，表土层真菌群落鉴别到 9 个属。其中在土壤团聚体为 2.0~1.0 mm 时青霉属和根霉属分离频率相当、毛霉属和酵母属分离频率相当，分别为 12.7% 和 7.9%；1.0~0.25 mm 的土壤团聚体中以酵母属为优势属，分离频率为 18.4%，根霉属为亚优势属，分离频率为 14.3%；而在 0.25~0.053 mm 的土壤团聚体中毛霉属为优势属，分离频率为 18.7%，青霉属为亚优势属，分离频率为 12.7%；<0.053 mm 的土壤团聚体中同样以毛霉属占优势，其分离频率是 10.4%。

表 1 不同耕作方式下土壤真菌群落的构成、分布和分离频率（%）

Table 1 Composition, distribution and separating frequency of soil fungi in water-stable aggregates (WSA) of different tillage

属 名	2.0 ~ 1.0 mm		1.0 ~ 0.25 mm		0.25 ~ 0.053 mm		<0.053 mm	
	常规轮作	垄作免耕	常规轮作	垄作免耕	常规轮作	垄作免耕	常规轮作	垄作免耕
青霉属 <i>Penicillium</i>	9.7	12.7	53.8	12.7	6.2	12.7	-	5.1
毛霉属 <i>Mucor Micheli ex Fries</i>	-	7.9	-	5.1	9.7	18.7	1.1	10.4
根霉属 <i>Rhizopus Ehrenberg</i>	-	12.7	-	14.3	3.9	9.8	-	7.4
酵母属 <i>Saccharomyces (Meyer) Reess</i>	17.7	7.9	4.3	18.4	-	9.8	2.8	-
接合霉属 <i>Zygorhynchus Vuillemin</i>	4.8	-	-	-	-	-	-	-
裂殖酵母属 <i>Schizosaccharomyces Lindner</i>	40.3	-	7.5	8.2	-	6.2	5.6	8.5
类酵母属 <i>Saccharomyces Hansen</i>	-	-	11.8	2.1	-	-	-	-
假丝酵母属 <i>Candida Berkhout</i>	-	3.2	-	-	-	-	3.3	-
红酵母属 <i>Rhodotorula Harrison</i>	-	-	-	-	-	-	-	2.3
隐球酵母属 <i>Cryptococcus Kützinger</i>	-	-	-	7.1	-	-	-	-

垄作免耕处理 1.0~0.25 mm 土壤团聚体中真菌的属类最丰富，为 7 个属，其他粒级的土壤团聚体中略少。而常规轮作处理中各粒级的土壤团聚体中真菌的属类无明显差异，其中 0.25~0.053 mm 的土壤团聚体中只鉴别到了 3 个属（表 1）。两种耕作方式下垄作免

耕较常规轮作的属类丰度大。多样性指数是衡量一个群落物种多样性的指标，从表 2 可见，真菌群落的多样性指数 Shannon 在<1 mm 各粒级中垄作免耕处理较常规轮作处理大，因此真菌群落的多样性也呈现上述变化趋势，而且在垄作免耕处理中多样性指数 Shannon

在 <0.053 mm 团聚体中减少,但多样性指数 Simpson 变化却不明显。

表 2 不同耕作方法下土壤团聚体中真菌群落多样性指数

Table 2 Diversity indices of fungi in surface soils under different tillage

处理	粒径 (mm)	Simpson	Shannon
常规轮作	2.0 ~ 1.0	0.79	1.04
	1.0 ~ 0.25	0.69	0.92
	0.25 ~ 0.053	0.99	0.51
	<0.053	0.99	0.42
垄作免耕	2.0 ~ 1.0	0.95	1.04
	1.0 ~ 0.25	0.93	1.24
	0.25 ~ 0.053	0.92	1.23
	<0.053	0.97	0.88

3 讨论

垄作免耕稻田土壤真菌数量较多的原因可能与垄作免耕稻田土壤微生态环境有关。高明等^[8]认为垄作免耕因土壤表层长期暴露在水面,长期以毛管水浸润,通气良好,水热状况稳定,为微生物的生长创造了良好的条件;也可能是垄作免耕条件下土壤团聚体的构成更有利于真菌的繁殖并且受到的机械扰动较少的原因^[9-10]。有研究表明真菌数量随土壤团聚体粒级的递减而递增^[11],而试验结果中 $0.25 \sim 0.053$ mm 团聚体的真菌数量较少,这可能是因此粒级的团聚体中植物残渣少从而影响了真菌的数量^[12]。

土壤真菌多样性与土壤养分的含量作为土壤肥力的衡量指标,与土壤团聚体有密切的关系。研究表明,土壤真菌在好气和酸性条件下最为活跃,主要分布在表层, $20 \sim 30$ cm 以下则数量迅速减少。它们在土壤中进行有机残体分解时,如果条件适宜,能将有机质彻底分解,并能参加腐殖质的形成,又由于菌丝体的作用,能把土粒结合成团聚体,使土壤物理性状得到改善^[13]。而且多种真菌有腐殖化作用和产生多糖的能力,能使团聚体黏结在一起,对团聚体的稳定起重要作用^[14-15]。不同的团聚体结构中真菌的构成及分布都有一定程度的差异,对棕壤的研究发现小粒级(<0.01 mm)与大粒级(>0.01 mm)微团聚体在土壤水分和养分的保持与释放及生物化学转化强度等方面都有不同的作用,小粒级团聚体的作用主要是保持土壤肥力,而大粒级则主要是调节养分的供应^[16]。在垄作免耕条件下各粒级的土壤团聚体中毛霉和根霉均有所增加,而毛霉属和根霉属可以分解土壤表层植物落叶及残渣中的淀粉基质,同时根霉属还可以分解土层中的纤维

素、半纤维素,毛霉属可以分解土层中的几丁质和腐殖质,对系统中的 C、N、P、S 等元素的循环起着关键的作用,改善了土壤结构^[17-18]。

实验中各粒级的土壤团聚体中都分离到了一定数量的青霉,而有研究认为青霉在免耕土壤中很少被分离到,虽然它是最典型的土壤真菌^[4]。Pugh^[19-20]也认为青霉是“短命基质上生存的短命习居者”,并主要以孢子状态存在于土壤中,由于青霉在土壤中不以菌丝状态存在,而免耕土壤中又存在着大量的较稳态的有机物质,因而可能导致免耕土壤青霉菌减少。这可能是由于平板稀释法是一种孢子真菌的分离方法,应用这种方法分离到的真菌几乎全部为丝孢纲的半知菌,并且青霉占很大优势。虽然这种方法已为很多国家土壤微生物工作者所采用,但并不能全面地反映真菌的生存状态与种群分布^[6-7],因此,应根据不同的研究目的,采用不同的分离方法。

真菌的生物量直接决定大团聚体的稳定性,而细菌生物量则与小团聚体的稳定性有关^[21]。一些研究证实多种真菌、细菌均有腐殖化作用和产生多糖的能力,使团聚体黏结在一起,在团聚体的稳定中起重要作用^[22]。团聚体中真菌数量和分布状况的变化也许是垄作免耕能迅速改善土壤的理化性状,提高土壤的供肥、保肥能力的内在原因之一^[23]。垄作免耕制度可以改善土壤结构,从而影响土壤表层真菌的数量和多样性。土壤耕作制度的变化会导致土壤结构的变化,这种生境的变化会影响到土壤真菌群落在不同大小团聚体中的组成、数量及分布。研究其中的特定关系对我们改善土壤团聚体的理化性质、提高土壤肥力起着重要的作用。土壤是一个非常复杂的体系,对土壤中发生的生物-物理-化学过程的研究需要多学科的交叉整合,而目前这方面的工作还非常薄弱尚需加强。

参考文献:

- [1] 王书锦, 胡江春, 张宪武. 新世纪中国土壤微生物学的进展. 微生物学杂志, 2002, 22: 37-39
- [2] Kandeler E. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. Biol. Fertil. Soils, 1997, 23(3): 299-306
- [3] Elliott ET. Aggregate structure and carbon, nitrogen, and phosphorus in native and cultivated soils. Soil Sci. Soc. Am. J., 1986, 50: 627-633
- [4] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法. 北京: 科学出版社, 1985
- [5] 高云超, 朱文珊, 陈文新. 秸秆覆盖免耕对土壤细菌群落区系

- 的影响. 生态学报, 2001, 21: 1704-1710
- [6] 高云超, 朱文珊, 陈文新. 耕作方法对土壤真菌数量和群落结构的影响. 华南师范大学学报, 2001, 4: 30-36
- [7] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999
- [8] 高明, 李阳兵, 魏朝富, 谢德体. 稻田长期垄作免耕对土壤肥力性状的影响研究. 水土保持学报, 2005, 19 (3): 29-33
- [9] 蔺海明, 陈垣, 李有忠, 胡恒觉. 半干旱地区少免耕对土壤水分动态的影响. 甘肃农业大学学报, 1996, 31 (1): 32-35
- [10] Mendes IC, Bandick AK, Dick RP, Bottomley PJ. Microbial biomass and activities in soil aggregates affected by winter cover crops. Soil Sci. Soc. Am. J., 1999, 63: 873-881
- [11] 尹瑞龄, 束中立, 乔凤珍. 中国土壤的合理利用和培肥: 土壤学会第五次代表大会暨学术年会论文集 (下册). 北京: 中国土壤学会, 1983: 63-64
- [12] Deneff K, Six J, Bossuyt H, Frey SD, Elliott ET, Merckx R, Paustian K. Influence of dry-wet cycles on the interrelationship between aggregate, particulate organic matter, and microbial community dynamics. Soil Biol. Biochem., 2001, 33: 1599-1611
- [13] Ternan JL, Williams AG, Elmes A, Hartley R. Aggregate stability of soils in central Spain and the role of land management. Earth Surf. Processes Landf., 1996, 21: 181-193
- [14] Haynes RJ, Beare MH. Influence of six crop species on aggregate stability and some labile organic matter fractions. Soil Biol. & Biochemistry, 1997, 29 (11/12): 1647-1653
- [15] 肖剑英, 张磊. 长期免耕稻田的土壤微生物与肥力关系研究. 河南农业大学学报, 2002, 24(1): 82-85
- [16] 陈恩凤, 关连珠, 汪景宽, 颜丽, 王铁宇, 张继宏, 周礼恺, 陈利军, 李荣华. 土壤特征微团聚体的组成比例与肥力评价. 土壤学报, 2001, 38(1): 49-53
- [17] 陈华舜, 李阜隶, 陈文新, 曹燕珍. 土壤微生物学. 上海: 上海科学技术出版社, 1981
- [18] Doran JW. Microbial changes associated with reduced management with reduced tillage. Soil Sci. Soc. Am. J., 1980, 44: 518-524
- [19] Pugh GJF. Strategies in fungal ecology. Transactions of the British Mycological Society, 1980, 75: 1-14
- [20] Puget P, Angers DA, Chen UC. Nature of carbohydrates associated with water-stable aggregates of two cultivate soils. Soil Biology & Biochemistry, 1999, 31(1): 55-63
- [21] Haynes RJ, Naidu R. Influence of lime, fertilizer and manure applications on soil organic matter content and soil physical conditions: A review. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 1998, 51: 123-137
- [22] Guggenberger G. Microbial contributions to the aggregation of a cultivated grassland soil amended with starch. Soil Biology & Biochemistry, 1999, 31: 407-419
- [23] 侯光炯. 农业土壤学—侯光炯宜宾应用研究17年论文集. 成都: 四川科学技术出版社, 2000: 143-210

Effect of Ridge-No-Tillage on Distribution of Soil Fungi in Different Sizes of Soil Aggregates

HU Yu, JIANG Xian-jun, TIAN Bo, LI Hang

(College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: Fungi plays an important role in some of soil biochemical processes such as ammoniation, nitrification, nitrogen transformation, cellulose and humus decomposition. Studies on fungi diversity and its distribution in different-size aggregates can help to understand these processes. Effect of ridge-no-tillage on the distribution of soil fungi in different-size soil aggregates were studied. The results indicated that the amount of fungi was the most within the soil aggregates of 1.0 ~ 0.25 mm under ridge-no-tillage, and the diversity of fungi showed similar trends. The amount of fungi were the most within the soil aggregate less than 0.053 mm under rice/rape rotation system. The results indicated that ridge-no-tillage may provide a more favorite micro-environment for microorganisms.

Key words: No-tillage, Microbial community, Aggregate size distribution