

应用生态学报

Chinese Journal of Applied Ecology

ISSN 1001-9332, CN 21-1253/Q

## 《应用生态学报》网络首发论文

题目：植茶年限对土壤微生物群落结构及多样性的影响  
作者：姚泽秀, 李永春, 李永夫, 陈志豪  
DOI: 10.13287/j.1001-9332.202008.037  
收稿日期: 2019-12-13  
网络首发日期: 2020-05-15  
引用格式: 姚泽秀, 李永春, 李永夫, 陈志豪. 植茶年限对土壤微生物群落结构及多样性的影响. 应用生态学报. <https://doi.org/10.13287/j.1001-9332.202008.037>



**网络首发:** 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认:** 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

# 植茶年限对土壤微生物群落结构及多样性的影响

姚泽秀 李永春<sup>✉</sup> 李永夫 陈志豪

(浙江农林大学环境与资源学院/浙江省森林生态系统碳循环与固碳减排重点实验室/亚热带森林培育国家重点实验室, 杭州 311300)

<sup>✉</sup>通信作者 E-mail: ycli@zafu.edu.cn

**摘要** 为探明植茶年限对土壤微生物群落结构及多样性的影响, 以 0、20、25、38 和 48 年茶园土壤表层(0~20 cm)、亚表层(20~40 cm)土壤样品为研究对象, 采用 T-RFLP 技术及 qPCR 方法对土壤细菌(B)、真菌(F)群落进行分析。结果显示, 植茶后土壤理化性质明显改变, 随植茶年限的增加土壤有机碳、碱解氮及有效磷含量呈先升高后降低的趋势, 表层土壤有机碳和全氮含量均显著高于亚表层土壤。不同植茶年限土壤细菌群落组分存在差异且多样性指数随植茶年限的增加呈下降趋势, 而不同植茶年限土壤真菌群落组分差异不明显且多样性指数无显著差异。总体来看, 土壤细菌群落对植茶年限的响应比真菌群落敏感。随植茶年限的增加, 茶园土壤微生物群落有从 F/B 较低的“细菌型”向 F/B 较高的“真菌型”转变的趋势。

**关键词** 植茶年限; 土壤细菌; 土壤真菌; 土层; 群落特征

DOI: 10.13287/j.1001-9332.202008.037

## Effects of different tea plantation ages on soil microbial community structure and diversity

YAO Ze-xiu, LI Yong-chun<sup>✉</sup>, LI Yong-fu, CHEN Zhi-hao

(School of Environmental and Resources, Zhejiang Agriculture and Forestry University/Zhejiang Provincial Key Laboratory of Carbon Cycling in Forest Ecosystems and Carbon Sequestration/State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Hangzhou 311300, China)

**Abstract** To investigate the effect of tea plantation age on soil microbial community structure and diversity, surface and subsurface soil samples (0-20 and 20-40 cm) were collected from tea plantation at different ages (0, 20, 25, 38 and 48 years). The soil bacterial and fungal communities were analyzed by terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) and real-time quantitative PCR techniques. The results showed that the soil physicochemical properties changed significantly after planting tea. The contents of soil organic carbon, available nitrogen, and available phosphorus increased at first, thereafter, they gradually decreased with the increase of tea plantation age. The contents of organic carbon and total nitrogen in the topsoil were significantly higher than those in the subsoil. Moreover, the composition of soil bacterial communities varied according to the tea plantation age, and the bacterial diversity index decreased with increasing tea plantation age. However, the composition of soil fungal communities, and diversity did not show a clear relationship with the tea plantation age. Overall, the response of soil bacterial communities was more sensitive to the tea plantation age than that of fungal communities. With the increase of tea plantation age, the ratio of soil fungi to bacteria showed increasing trend. The soil microbial community in the tea plantation tended to change from a "bacterial type" with a lower fungi/bacteria ratio (F/B) to a "fungal type" with a higher F/B.

**Key words** tea plantation age; soil bacteria; soil fungi; soil layer; community characteristic

茶树(*Camellia sinensis*)是亚热带地区重要的多年生木本常绿作物<sup>[1]</sup>, 茶树凋落物和修剪枝叶的覆盖、根系分泌物的积累及大量氮肥的施用使得茶园土壤逐渐形成独特的生态系统<sup>[2]</sup>。随植茶年限的增加, 茶园土壤质量逐渐退化, 大多数茶园在植茶 20 年左右其经济效益出现大幅下降<sup>[3]</sup>。生态系统中土壤质量退化程度与土壤微生物群落密切相关<sup>[4]</sup>, 而土壤性质诸如 pH 和氮素有效性等能导致土壤微

收稿日期: 2019-12-13

基金项目: 本文由国家自然科学基金项目(31670618)资助

作者简介: 姚泽秀, 女, 1993 年生, 硕士研究生。主要从事土壤与环境微生物学研究。E-mail: 18868192625@163.com

Fund: This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31670618).

网络首发时间: 2020-05-15 11:51:13 网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1253.q.20200514.1557.001.html>

生物群落变异<sup>[5]</sup>。研究表明, 由于茶树聚铝、根系代谢强以及过量施肥和酸雨等原因<sup>[6]</sup>, 茶园土壤 pH 随植茶年限的增加而不断降低, 土壤养分利用受限<sup>[7]</sup>。土壤养分含量随植茶年限的变化规律, 不同的研究得出的结论并不一致, 如李贞霞等<sup>[8]</sup>研究表明土壤有机质、碱解氮及速效钾含量随植茶年限的增加而增加; 而林生等<sup>[9]</sup>对福建省试验茶园的研究表明, 土壤有机质、全氮及碱解氮含量随植茶年限的增加呈先升高后降低的趋势。此外, 由于修剪枝叶和肥料施用等茶园土壤养分来源主要富集在土壤表层, 导致土壤养分在不同土层的分布有差异<sup>[10]</sup>。然而, 有关茶园不同土层微生物群落随植茶年限变化的特征研究相对匮乏。研究土壤微生物群落随植茶年限的变化特征及其决定性的土壤环境因子, 可为实现退化土壤生态系统修复和茶树人工林可持续经营提供理论依据<sup>[11]</sup>。

土壤微生物群落多样性能灵敏地表征土壤健康与质量的动态, 其多样性下降对农业土壤的可持续利用有负面影响<sup>[12]</sup>。研究发现, 随植茶年限的增加, 茶园土壤微生物群落结构发生显著变化, 微生物群落结构呈单一化趋势<sup>[13]</sup>。不同植茶年限土壤细菌丰富度指数、均匀度指数随植茶年限的增加均显著下降<sup>[14]</sup>; 且细菌数量与植茶年限呈显著负相关<sup>[15]</sup>。真菌在降解茶树修剪枯落物中发挥了重要作用, 且茶园土壤 pH 的轻微变化都能明显影响真菌群落多样性和组分<sup>[5]</sup>。张玥等<sup>[7]</sup>研究发现, 不同植茶年限土壤真菌丰富度指数无显著差异。当前关于不同植茶年限土壤微生物群落的研究多侧重于细菌, 探究酸化日益严重的茶园土壤真菌群落随植茶年限变化特征及其影响因素同样不容忽视。此外, 真菌与细菌的比值(F/B)可以反映真菌与细菌相对数量的变化及 2 个种群的相对丰富程度<sup>[16]</sup>, 是评估环境对土壤微生物群落影响的重要指标, 代表着微生物对环境变化的响应及生态系统功能的影响<sup>[17]</sup>。王海斌等<sup>[4]</sup>应用 PLFA 方法的研究表明, 茶园土壤 F/B 随植茶年限的增加呈上升趋势。而 F/B 还可通过快速且量化的荧光定量 PCR 方法得到<sup>[18]</sup>, 但目前尚无应用荧光定量 PCR 方法量化茶园土壤 F/B 的报道。本研究采用荧光定量 PCR 和末端限制性片段长度多样性(T-RFLP)等技术, 分析长期种植茶树对土壤细菌和真菌群落特征的影响, 揭示决定土壤细菌、真菌群落演变的主要环境因子, 为茶园的退化修复及可持续优质高产提供理论依据<sup>[19]</sup>。

## 1 研究地区与研究方法

### 1.1 研究区概况

试验地位于杭州中国农业科学院茶叶研究所(30°10' N, 120°05' E)内。选取种植茶树 20 年(T20)、25 年(T25)、38 年(T38)、48 年(T48)的茶园作为研究对象, 同时选取距离茶园 30 m 左右的林地(T0)作为对照。每个植茶年限设置 3 块 10 m×10 m 的样地作为重复, 每个样地之间直线距离 10 m 以上, 共计 15 块样地。试验区属典型亚热带季风气候, 年平均气温 17 °C, 年降水量 1533 mm。试验地土壤类型为红壤, 由林地改种为茶树。茶树品种为‘龙井 43’, 以行距 150 cm 单行种植, 丛距 33 cm, 种植密度约为 6 万株 hm<sup>-2</sup>。茶园统一管理, 每年秋季轻修剪 1 次, 每 3~4 年重修剪 1 次, 修剪枝叶留在茶园里。施氮(主要为尿素)量为 900 kg hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>, 施用有机肥(厩肥或饼肥)2250 kg hm<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>。林地为木荷(*Schima superba*)、樟树(*Cinnamomum camphora*)和苦槠树(*Castanopsis sclerophylla*)的混交林, 不施肥。

### 1.2 样品采集与处理

土壤样品采集于 2018 年 10 月, 使用土钻按照五点取样法分别采集 15 个样地表层(0~20 cm)和亚表层(20~40 cm)土壤样品。采集的土样立即带回实验室, 过 2 mm 筛后分为 2 份, 1 份置于室内自然风干, 研磨过筛后用于土壤理化性质分析; 另 1 份立即冷冻干燥保存于-80 °C, 用于提取土壤微生物总 DNA。

### 1.3 分析方法

#### 1.3.1 土壤化学性质

参照文献[20]的方法, 土壤 pH 值采用复合电极法测定, 水土比为 5:1; 有机碳含量用 K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 油浴外加热法测定; 全氮含量以半微量凯氏滴定法测定; 碱解氮含量用碱解扩散法测定; 有效磷含量用 HCl-NH<sub>4</sub>F 溶液浸提, 钼锑抗比色法测定; 速效钾含量用 NH<sub>4</sub>Ac 提取, 通过火焰光度计法测

定。

### 1.3.2 土壤微生物总 DNA 提取

PowerSoil<sup>®</sup>总 DNA 提取试剂盒购于德国 QIAGEN 公司。称取 0.25 g 保存于-80 °C 冰箱中的土壤样品，按试剂盒说明书操作流程提取总 DNA。用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测提取的总 DNA 片段大小，提取的 DNA 样品贮存至-20 °C 冰箱备用。

### 1.3.3 土壤细菌、真菌群落分析

采用 T-RFLP 技术分析土壤细菌、真菌群落组分，引物参照文献[21]，ITS 序列扩增上游引物的 5' 端用 FAM 荧光标记，细菌采用引物 63F(CAGGCCTAACACATGCAAGTC) 和 1389R(ACGGGCGGTGTGTACAAG)；真菌采用引物 ITS1(TCCGTAGGTGAACCTGCGG) 和 ITS4(TCCTCCGCTTATTGATATGC)。50 μL 反应体系包括 Premix 25 μL、无菌双蒸水 22.7 μL、10 μmol·L<sup>-1</sup> 的上游和下游引物各 0.5 μL、Bovine Serum Albumin(BSA, 20 mg mL<sup>-1</sup>)0.5 μL、模板 DNA 0.8 μL。PCR 扩增条件为：95 °C 预变性 3 min，95 °C 变性 1 min，53 °C(细菌)/55 °C(真菌)退火 1 min，72 °C 延伸 90 s，30(细菌)/32(真菌)个循环，72 °C 10 min。

PCR 产物经纯化后，分别用限制性内切酶 Msp I 和 Taq I 进行细菌和真菌酶切，反应体系为 20 μL，其中酶 1 μL，纯化产物 8 μL，缓冲液 2 μL，超纯水 7 μL，BSA 2 μL。细菌酶切程序为 37 °C 4 h，65 °C 20 min；真菌酶切程序为 37 °C 6 h，65 °C 20 min。用 Gene Scan analysis 软件分析 T-RFLP 图谱，去掉小于 50 bp 的引物峰和相对面积小于 1% 的杂峰，筛选后的数据在网站 <http://trex.biohpc.org/index.aspx> 上进行滤噪，将图谱中每一个可统计的 T-RF 视为 1 个分类操作单元 (operational taxonomic unit, OTU)，以 T-RF 的相对峰面积作为对应的 OTU 的丰度，相对丰度>10% 的 T-RF 被视为主要 T-RF。将条带信息提交至 MICA 网站(<http://mica.ibest.uidaho.edu/pat.php>)进行比对，确定其种属分类。

### 1.3.4 土壤细菌、真菌数量的定量分析

采用荧光染料掺入法(SYBR green)进行实时定量 PCR。采用 SYBR Premix ExTaq<sup>™</sup> 试剂盒 (TaKaRa)，使用 Bio-Rad CFX96 C1000<sup>™</sup> Thermal Cycler 仪器对土壤细菌、真菌进行荧光定量 PCR 扩增，每份 DNA 样品 3 次重复。荧光定量 PCR 反应体系 20 μL，SYBR Premix ExTaq<sup>™</sup> 10 μL，引物各 0.2 μL，模板 DNA 1 μL，超纯水 8.6 μL。细菌 PCR 引物为 338F(CCTACGGGAGGCAGCAG) 和 518R(ATTACCGCGGCTGCTGG)；真菌 PCR 引物为 NS1(GTAGTCATATGCTTGTCC) 和 Fung (CATTCCCGTTACCCGTTG)，PCR 反应程序为：94 °C 预变性 2 min；94 °C 变性 30 s，60 °C(细菌)/55 °C(真菌)退火 30 s，72 °C 延伸 1 min，30 个循环。用 Nanodrop<sup>®</sup> ND-1000 测定质粒 DNA 浓度并计算细菌和真菌的基因拷贝数。以 10 倍梯度对重组质粒进行梯度稀释(10<sup>-3</sup>~10<sup>-8</sup>)，每个梯度 3 个重复，通过 qPCR 扩增获得细菌、真菌标准曲线，扩增效率分别为 96.8% 和 96.3%，溶解曲线为单一峰，细菌、真菌土壤基因的 qPCR 相关系数分别为 0.999 和 0.998。

## 1.4 数据处理与统计分析

采用 Microsoft Excel 2016 软件整理数据，通过 SPSS 18.0 统计软件进行双因素方差分析和差异显著性检验(LSD 法，α=0.05)。通过 Canoco 5 对理化性质进行主成分分析(principle component analysis, PCA)。使用 R 软件进行非计量多维尺度转换排序(non-metric multidimensional scaling, NMDS)，排序结果作图通过 Origin 2017 完成。使用 R 软件计算微生物群落多样性指数及基于 Mantel 测验的环境变量与细菌、真菌群落结构的 Spearman 相关系数。通过 R 软件进行多元回归树分析(multiple regression trees, MRT)。

多样性计算公式<sup>[22]</sup>如下：

$$H = - \sum_{i=1}^S \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N}$$

Shannon 多样性指数

$$D = \frac{\sum_{i=1}^S n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}$$

Simpson 多样性指数

$$\text{Evenness 多样性指数 } E = \frac{H}{\ln S}$$

式中:  $S$  为观测到的 OTU 数目;  $n_i$  为含有  $i$  个 T-RF 的 OTU 数目;  $N$  为所有的 T-RF 数。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同植茶年限土壤化学性质

由表 1 可知, 不同年限、不同土层及二者的互作均显著影响了土壤全氮、碱解氮、有效磷、速效钾含量以及碳氮比。与林地土壤(T0)相比, 植茶后表层土壤 pH 有降低趋势, 其中 T20 和 T48 显著降低; 但亚表层土壤 pH 无显著变化。植茶后, 土壤有机碳、全氮、碱解氮、有效磷和速效钾含量均显著增加; 随植茶年限的增加, 土壤有机碳、碱解氮和有效磷含量均呈先升高后降低的趋势, 其中土壤有机碳、碱解氮及有效磷含量均在 T38 茶园达到最大值。此外, 不同植茶年限表层土壤有机碳和全氮含量均显著高于亚表层土壤。

表1 不同植茶年限土壤化学性质  
Table 1 Soil chemical properties of tea plantation with different ages

土层 Layer (cm)	年限 Age	pH	有机碳 Organic C (g·kg <sup>-1</sup> )	全氮 Total N (g·kg <sup>-1</sup> )	碳氮比 C/N	碱解氮 Available N (mg·kg <sup>-1</sup> )	有效磷 Available P (mg·kg <sup>-1</sup> )	速效钾 Available K (mg·kg <sup>-1</sup> )
0~20	T0	4.41±0.01aA	19.99±0.42eA	1.35±0.10dA	14.87±1.17cB	104.59±3.32eA	3.19±0.45dA	4.73±0.43eA
	T20	3.94±0.07bA	30.60±1.80dA	2.00±0.08bA	15.33±1.28cB	174.33±6.62dA	173.60±9.73bA	24.08±0.18aA
	T25	4.26±0.41abA	36.06±1.32cA	1.61±0.10cA	22.42±1.77aA	198.84±5.90cA	177.13±10.59bA	17.08±1.03cA
	T38	4.31±0.27abA	49.59±0.43aA	2.66±0.14aA	18.70±1.13bB	331.12±5.71aA	206.80±9.99aA	11.63±0.58dA
	T48	3.90±0.12bA	47.02±0.94bA	2.05±0.10bA	22.96±1.62aA	258.06±2.78bA	133.68±9.99cA	19.08±0.78bA
20~40	T0	4.49±0.05aA	15.33±0.93eB	0.53±0.05eB	29.06±4.36aA	63.69±06.14eB	1.71±0.57dB	3.87±0.20cB
	T20	4.15±0.18aA	26.15±1.26dB	1.37±0.04cB	19.05±1.44cA	178.77±3.91cA	98.31±7.43cB	17.43±0.95aB
	T25	4.60±0.55aA	32.07±1.72cB	1.16±0.12dB	27.96±4.03abA	113.30±4.90dB	140.95±6.81bB	11.57±0.788bB
	T38	4.35±0.33aA	46.84±0.83aB	2.01±0.03aB	23.26±0.58bcA	243.95±2.70aB	166.32±9.45aB	10.33±1.09bA
	T48	4.02±0.03aA	44.32±0.62bB	1.71±0.09bB	26.01±1.71abA	214.69±3.03bB	136.43±8.83bA	17.60±1.18aA
<i>F</i>								
		4.35*	747.91**	200.45**	12.02**	1624.29**	448.00**	396.91**
年限 Age (A)		2.74	81.28**	304.02**	57.18**	856.66**	100.82**	118.13**
土层 Layer (L)		0.31	1.03	6.09**	6.16**	96.28**	22.67**	17.32**
A*L								

\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ . 下同 The same below. 同列不同大、小写字母分别表示同一年限不同土层、同一土层不同年限差异显著( $P < 0.05$ )  
Different uppercase and lowercase letters in the same column meant significant difference at 0.05 level between the different soil layers at the same age and between the different ages in the same soil layer, respectively.

为进一步了解不同植茶年限土壤化学性质之间的差异, 进行主成分分析(PCA)。结果显示(图 1), 主成分 1 和 2 对土壤化学性质变异的解释量分别为 63.5% 和 17.8%, 两者共解释了 81.3% 的总变异。表层和亚表层土壤 T0、T20、T25 的样品相对独立, T38、T48 样品则聚集在一起, 表明植茶后土壤化学性质明显改变, 且不同植茶年限间土壤化学性质有差异, 但 T38、T48 差异不明显。

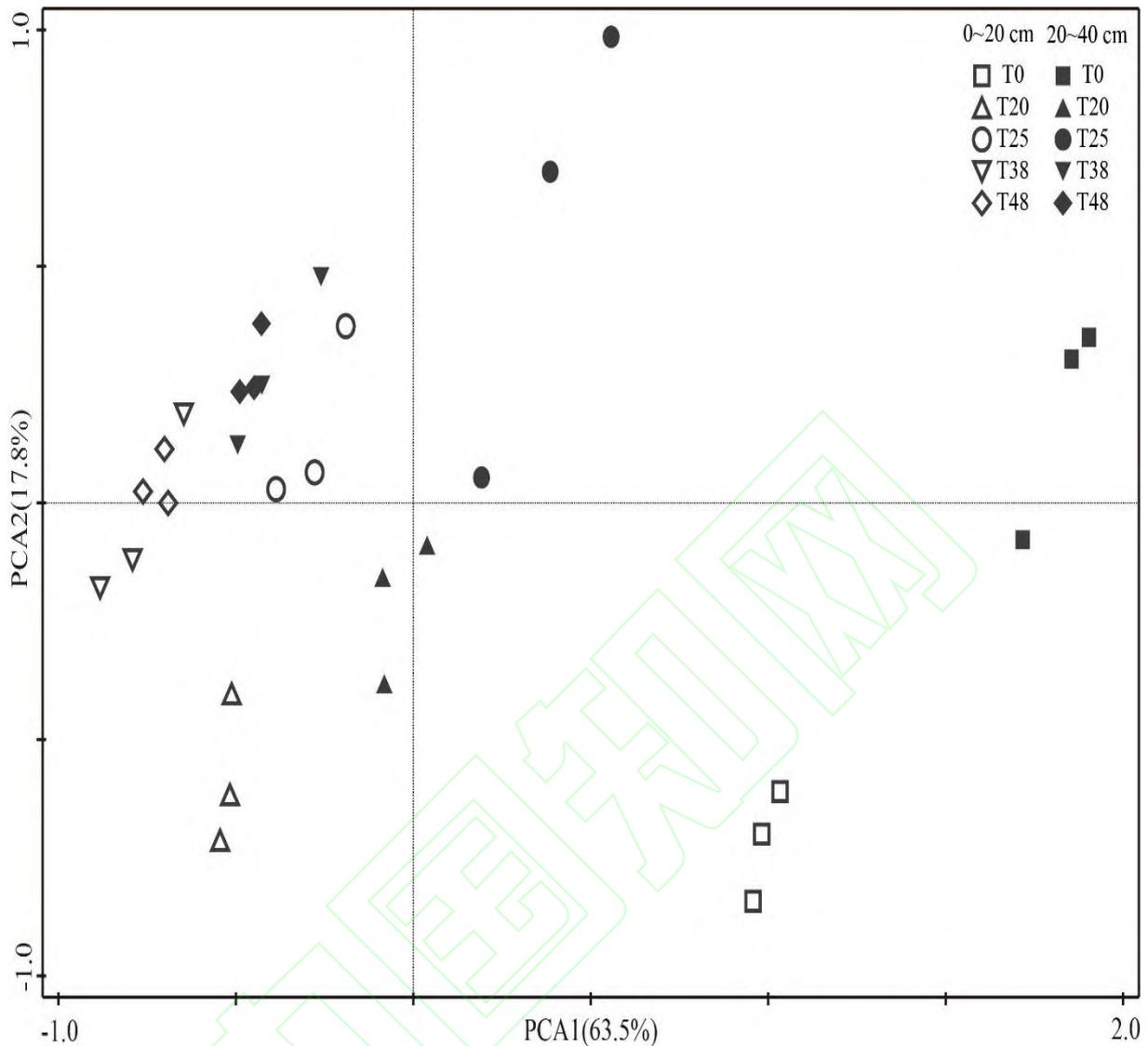


图 1 不同植茶年限土壤化学性质的主成分分析(PCA)

Fig.1 Principal component analysis (PCA) of soil chemical properties in tea plantation with different ages.

## 2.2 不同植茶年限土壤细菌、真菌群落结构

由 T-RFLP 图谱可知(图 2), 细菌 51、90 和 111 bp 的 T-RF 相对丰度均大于 10%, 为优势种群, 经比对后发现(表 2), 相匹配的菌属依次为嗜纤维菌属(*Capnocytophaga*)、盐单胞菌属(*Halomonas*)、食烷菌属(*Alcanivorax*)。T-RF 相对丰度统计分析表明, 植茶后出现了 125 bp 的 T-RF, 且 121 bp 的 T-RF 显著增加, 114 bp 的 T-RF 在 T48 年限显著降低, 上述 T-RFs 经比对后发现, 相匹配的菌属依次为红菌属(*Rhodobium*)、溶杆菌属(*Lysobacter*)以及孢囊菌属(*Methylocystis*)。真菌 169 bp 的 T-RF 相对丰度大于 10%, 为优势种群, 相匹配的菌属为球囊霉属(*Glomus*)。T-RFs 相对丰度统计分析表明, 植茶后出现了 377bp 的 T-RF, 相匹配的菌属为酵母属(*Dexomyces*); 植茶后 94、149、248 bp 的 T-RFs 显著降低, 相匹配的菌属依次为 *Fragum unedo*、酵母菌科(*Saccharomycetales*)和暗球腔菌属(*Phaeosphaeria*); T38 年限中 236 bp 的 T-RF 显著高于其它年限, 相匹配的菌属为蜡壳菌属(*Sebacina*)。

表2 不同植茶年限土壤细菌、真菌T-RFs的系统发育种属  
Table 2 Phylogenetic affiliations of soil bacteria and fungi T-RFs in tea plantation with different ages

细菌 Bacteria			真菌 Fungi		
T-RF 长度 T-RF length (bp)	相似菌种 Most possible species	登录号 Accession number	T-RF 长度 T-RF length (bp)	相似菌种 Most possible species	登录号 Accession number
51	二氧化碳嗜纤维菌 <i>Capnocytophaga</i>	U41351.1.1454	94	<i>Fragum unedo</i>	U41351.1.1454
90	食物盐单胞菌 <i>Halomonas alimentaria</i>	AY553076.1.1506	149	酵母菌科 <i>Saccharomycetales</i>	AY553076.1.1506
111	优雅食烷菌 <i>Alcanivorax venustensis</i>	EU440953.1.1509	169	球囊霉属 <i>Glomus irregulare</i>	EU440953.1.1509
114	甲基孢囊菌属 <i>Methylocystis</i>	AJ458498.1.1407	236	蜡壳菌属 <i>Sebacina vermifera</i>	AJ458498.1.1407
121	溶杆菌属 <i>Lysobacter</i>	GU931381.1.1510	248	暗球腔菌属 <i>Phaeosphaeria rousseliana</i>	GU931381.1.1510
125	红菌属东方红菌 <i>Rhodobium orientis</i>	D30792.1.1408	377	酵母属 <i>Derxomyces</i>	D30792.1.1408

GenBank 中已知细菌、真菌序列的 Accession 号 The accession number of the known bacteria and fungi sequence deposited in GenBank.

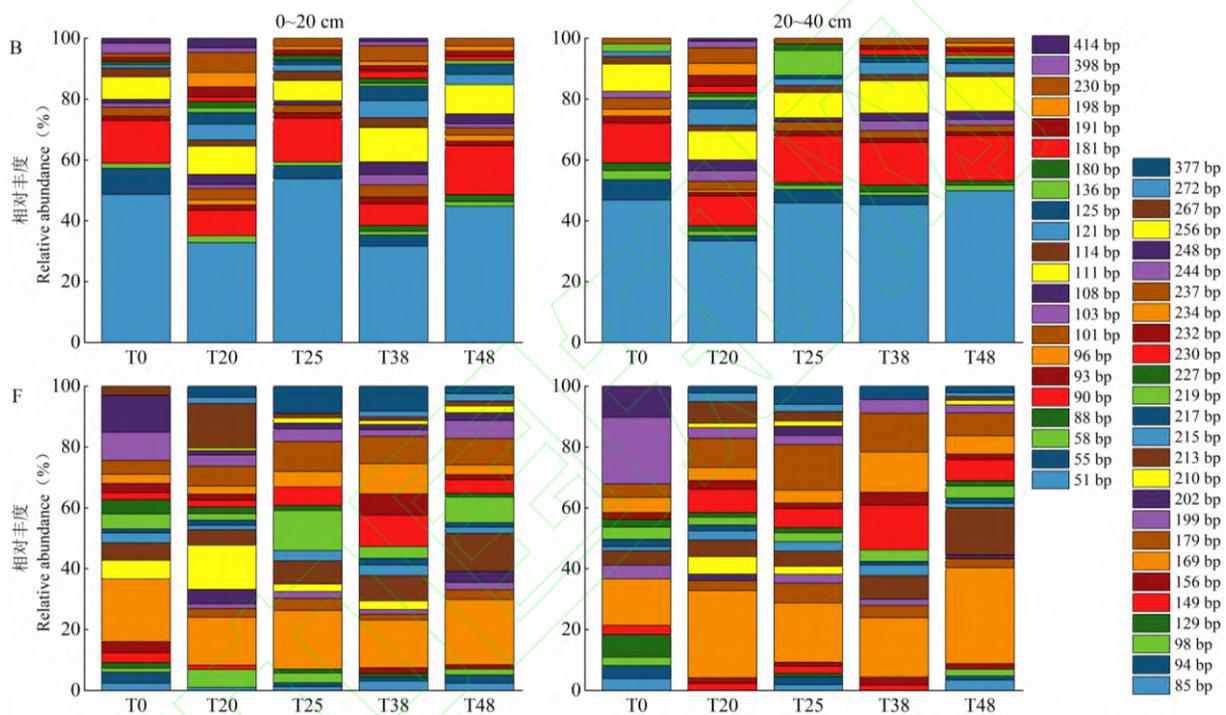


图2 不同植茶年限土壤细菌、真菌 T-RFs 相对丰度  
Fig.2 Relative abundance of T-RFs of soil bacterial and fungal communities in tea plantation with different ages.

B: 细菌 Bacteria; F: 真菌 Fungi. 下同 The same below.

为进一步展示不同植茶年限土壤细菌、真菌群落结构的差异,进行 NMDS 分析,样点的分布代表不同年限土壤群落结构之间的相似程度。结果显示(图 3),除 T20 和 T25 表层土壤细菌群落分布相对集中外,其他植茶年限土壤样本均能在一定程度上分开;表层与亚表层之间除 T48 外均能明显分开,表明不同植茶年限表层和亚表层土壤细菌群落结构有差异。土壤真菌群落结构只有 T0 表层和亚表层相对独立,表明植茶后土壤真菌群落结构有所改变,但不同植茶年限和不同土层之间差异并不明显。

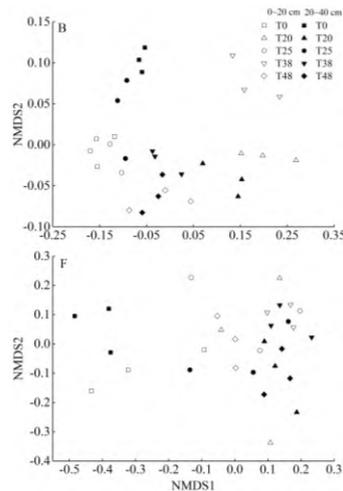


图3 土壤细菌、真菌群落结构的非计量多维尺度转换排序(NMDS)分析  
Fig.3 Non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis of the community composition of soil bacteria and fungi.

### 2.3 不同植茶年限土壤细菌、真菌多样性

从表 3 可以看出, T20、T38 表层土壤细菌丰富度指数、优势度指数及均匀度指数均显著高于其他年限, 而亚表层土壤则以 T20 最高。不同植茶年限表层土壤真菌丰富度指数、优势度指数及均匀度指数均无显著差异; 亚表层土壤丰富度指数无显著差异。相关性分析表明, 细菌均匀度指数与碱解氮、有效磷及速效钾含量呈显著正相关; 真菌均匀度指数与 pH 呈显著正相关。

表3 不同植茶年限土壤细菌、真菌多样性指数  
Table 3 Diversity indices of soil bacteria and fungi communities in tea plantation with different ages

土层 Layer (cm)	年限 Age	细菌群落 Bacterial community			真菌群落 Fungal community		
		Shannon 指数 Shannon index	优势度指数 Simpson index	均匀度指数 Evenness index	Shannon 指数 Shannon index	优势度指数 Simpson index	均匀度指数 Evenness index
0~20	T0	2.39±0.33b	0.69±0.05b	0.66±0.03b	3.34±0.17a	0.86±0.02a	0.85±0.02a
	T20	3.41±0.18a	0.84±0.02a	0.82±0.02a	3.40±0.20a	0.87±0.02a	0.86±0.03a
	T25	2.30±0.22b	0.65±0.03b	0.64±0.04b	3.26±0.17a	0.86±0.03a	0.85±0.04a
	T38	3.34±0.12a	0.84±0.02a	0.82±0.02a	3.52±0.31a	0.89±0.02a	0.89±0.00a
	T48	2.53±0.37b	0.71±0.06b	0.69±0.04b	3.64±0.08a	0.89±0.02a	0.86±0.03a
20~40	T0	2.70±0.11b	0.74±0.02b	0.72±0.01b	3.24±0.22a	0.85±0.04ab	0.86±0.06a
	T20	3.36±0.23a	0.83±0.03a	0.80±0.02a	3.28±0.31a	0.84±0.04ab	0.82±0.04ab
	T25	2.55±0.22b	0.72±0.04b	0.69±0.04b	3.32±0.15a	0.86±0.02ab	0.86±0.03a
	T38	2.69±0.13b	0.73±0.02b	0.69±0.03b	3.21±0.25a	0.87±0.03a	0.87±0.04a
	T48	2.42±0.22b	0.68±0.02b	0.64±0.02c	2.89±0.17a	0.79±0.05b	0.76±0.03b
<i>F</i>		20.00**	21.09**	30.79**	0.23	1.39	3.34*
年限 Age (A)		0.33	0.13	1.85	9.65**	8.13**	5.3*
土层 Layer (L)		4.29*	5.90**	10.83**	3.19*	2.36	2.07

同列不同小写字母表示同一土层不同年限差异显著( $P < 0.05$ ) Different letters in the same column meant significant difference at 0.05 level between the different ages in the same soil layers.

### 2.4 不同植茶年限土壤性质对微生物群落的影响

Mantel 检验结果表明(表 4), 表层土壤细菌群落结构与全氮、碱解氮、有效磷和速效钾含量呈显著正相关; 亚表层土壤细菌群落结构与土壤有机碳、全氮、碳氮比、碱解氮、有效磷和速效钾含量呈

显著正相关。表层土壤真菌群落结构与土壤有机碳、碱解氮、有效磷和速效钾含量呈显著正相关；亚表层土壤真菌群落结构与土壤有机碳、全氮、碱解氮、有效磷和速效钾含量呈显著正相关。

表4 基于Mantel检验的土壤细菌、真菌群落结构与环境变量之间的Spearman相关性系数

Table 4 Spearman's correlation coefficients between soil bacteria, fungi community structure and environmental variables by Mantel test

项目 Item	细菌群落 Bacterial community		真菌群落 Fungal community	
	0~20 cm	20~40 cm	0~20 cm	20~40 cm
pH	0.104	0.000	0.059	0.231
有机碳 Organic C	0.154	0.386**	0.366**	0.428**
全氮 Total N	0.572**	0.345**	0.184	0.660**
碳氮比 C/N	0.043	0.378**	0.137	0.164
碱解氮 Available N	0.246*	0.555**	0.326**	0.588**
有效磷 Available P	0.236*	0.470**	0.436**	0.642**
速效钾 Available K	0.293*	0.374**	0.449**	0.586**

为进一步分析不同植茶年限土壤化学性质对细菌、真菌群落结构的影响，进行多元回归树分析(MRT)，基于交叉验证相对误差(CVRE)最小代表预测能力最好的原则，MRT分类将细菌群落划分为6组(图4)。MRT第一次分割以碱解氮  $143.5 \text{ mg kg}^{-1}$  为节点，将处理分为2组；第二次分割以有效磷  $68.84 \text{ mg kg}^{-1}$  为节点，分为T0、S0和S25两组；以碳氮比20.4为节点分为两组；第三次分割以有机碳  $40.59 \text{ g kg}^{-1}$  为节点，分为T25和T48、S38、S48两组；以碱解氮  $181.8 \text{ mg kg}^{-1}$  为节点，分为S20和T20、T38两组。MRT分类以有机碳  $20.17 \text{ g kg}^{-1}$  为节点，将真菌群落划分为T0、S0和其他处理两组。从MRT分类结果来看，土壤碱解氮和有效磷是影响不同植茶年限土壤细菌群落结构变异的关键因素，而有机碳含量是影响不同植茶年限土壤真菌群落结构变异的主要因素。

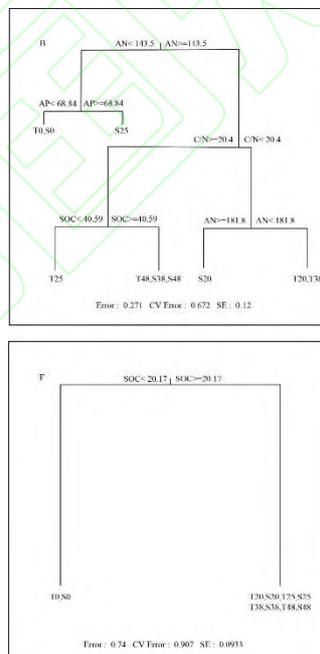


图4 不同植茶年限土壤细菌、真菌群落多元回归树

Fig.4 Multivariate regression tree of soil bacteria and fungi communities in tea plantation with different ages.

T: 0~20 cm; S: 20~40 cm. Error: 误差; CV Error: 交叉验证误差 Cross-validation error; SE: 标准差 Standard error.

## 2.5 不同植茶年限土壤细菌、真菌丰度分析

不同植茶年限表层与亚表层土壤细菌与真菌的数量变化如图5所示。表层(0~20 cm)土壤细菌数量在  $5.0 \times 10^9 \sim 2.90 \times 10^{10} \text{ copies g}^{-1}$  干土，亚表层(20~40 cm)土壤细菌数量在  $2.3 \times 10^9 \sim 1.51 \times 10^{10} \text{ copies g}^{-1}$  干

土；表层土壤真菌数量在  $5.4 \times 10^9 \sim 1.86 \times 10^{10}$  copies  $g^{-1}$  干土，亚表层土壤真菌数量在  $2.5 \times 10^9 \sim 1.02 \times 10^{10}$  copies  $g^{-1}$  干土。无论对表层还是亚表层而言，林地土壤(T0)的细菌数量显著低于茶园土壤 T20、T38，但显著高于 T48。植茶后真菌数量显著升高，且随植茶年限的增加呈降低趋势。与 T0 相比，植茶后表层土壤真菌/细菌比(F/B)显著增加，而亚表层土壤 F/B 值除 T38 外均显著增加。此外，茶园土壤 F/B 均在 T48 达到最大。相关分析表明，土壤细菌数量与全氮含量呈显著正相关，与碳氮比呈显著负相关。土壤真菌数量与全氮、碱解氮、有效磷和速效钾含量呈显著正相关，与碳氮比呈显著负相关。表层土壤 F/B 与碳氮比呈显著正相关。双因素方差分析表明，不同年限、不同土层及二者的交互作用对细菌、真菌数量均有显著影响。

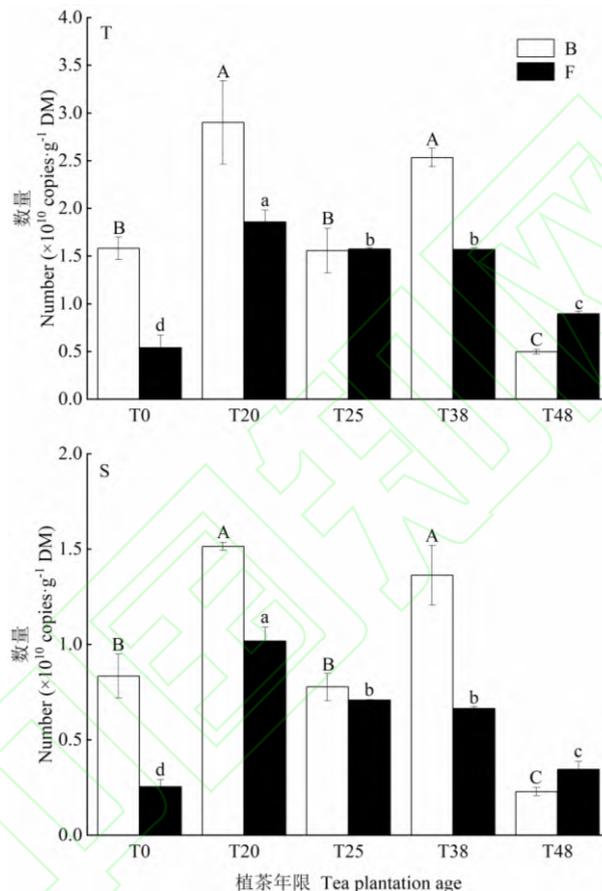


图 5 不同植茶年限土壤细菌、真菌数量

Fig.5 Gene copies of soil bacteria and fungi in surface and subsurface soils in tea plantation with different ages.

不同大、小写字母分别表示不同植茶年限土壤细菌、真菌丰度差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different uppercase and lowercase letters meant significant difference between the soil bacteria or fungi abundance in tea plantation with different ages at 0.05 level. F/B: 0~20 cm: T0=0.34; T20=0.65; T25=1.03; T38=0.62; T48=1.81. 20~40 cm: T0=0.31; T20=0.67; T25=0.92; T38=0.49; T48=1.54.

### 3 讨论

茶园属于人为干扰较大的次生生态系统，茶园土壤养分随植茶年限增加如何变化已成为当前茶园土壤生态系统研究的焦点<sup>[23]</sup>。本研究不同植茶年限土壤化学性质主成分分析表明，植茶后土壤理化性质明显改变，且不同植茶年限间土壤化学性质有差异。以往的研究也表明，植茶后土壤化学性质发生改变<sup>[24]</sup>，且长期种植茶树导致土壤有机碳、总氮和有效磷的累积，其累积速率随植茶年限增加而降低<sup>[25]</sup>。本研究中不同植茶年限土壤有机碳、碱解氮及有效磷含量随植茶年限的增加呈先升高后降低的趋势，与以往研究中土壤养分含量随植茶年限增加而先升高后降低的结果相一致<sup>[26]</sup>。此外，对照优质高效高产茶园土壤营养诊断指标<sup>[27]</sup>，试验地土壤有机碳、全氮、有效磷含量均超出高产优质茶园标

准,但严重缺钾。本研究中表层土壤有机碳和全氮含量均显著高于亚表层土壤,土壤化学性质主成分分析也表明,植茶 25 年以后表层土壤理化性质与植茶 38 年以后亚表层土壤具有相似性,主要是由于凋落物和氮肥施用主要集中在土壤表层使得表层土壤养分积累更快<sup>[10]</sup>。Han 等<sup>[28]</sup>研究表明,茶树种植年限可通过土壤养分含量变化影响微生物群落结构。

植茶年限对土壤微生物的影响有两个方面,一方面,随植茶年限增加而提高的土壤养分水平有利于土壤微生物生长<sup>[29]</sup>;另一方面,茶树自身的根系分泌物对土壤微生物有抑制作用<sup>[30]</sup>。本研究中细菌群落 NMDS 分析表明,不同植茶年限间土壤细菌群落组分有差异。表层土壤细菌 3 种多样性指数均以 T20、T38 最高,而亚表层土壤则表现为 T20 最高,这与王海斌等<sup>[14]</sup>茶园土壤细菌多样性指数随植茶年限增加呈下降趋势的研究结果类似。微生物群落多样性对维持土壤生态系统的稳定性有决定性作用<sup>[4]</sup>,多样性水平的降低可能导致土壤生态系统结构失衡,进而导致土壤质量退化<sup>[31]</sup>。本研究中,细菌均匀度指数与碱解氮、有效磷、速效钾呈显著正相关,表明养分含量升高使得细菌种类的均一性增加。探明茶园土壤微生物数量及其影响因素,对调控茶园土壤生物学性状、促进茶树生长有重要意义。本研究中土壤细菌数量随植茶年限增加而显著减少甚至低于林地土壤,与韩文炎等<sup>[15]</sup>茶园土壤细菌数量随植茶年限增加而降低的结果一致。MRT 分类将细菌群落组分为 6 组,通过碱解氮、有效磷和碳氮比能将植茶前的土壤样品与不同植茶年限土壤样品分开,表明土壤碱解氮、有效磷和碳氮比是影响不同植茶年限土壤细菌群落结构变异的关键因素。

真菌群落组分 NMDS 分析表明,T0 年限土壤样品与其他植茶年限土壤样品相对分开,而不同植茶年限土壤样品则聚集在一起,表明植茶后土壤真菌群落组分发生改变,但不同植茶年限之间差异并不明显。与细菌群落组分随植茶年限增加而变化相比,真菌群落组分随植茶年限增加并无明显变化,可见土壤细菌群落对植茶年限的响应比真菌群落更为敏感。本研究中真菌优势种群 169 bp 的 T-RFs 比对结果显示为球囊霉属,属从枝菌根真菌。张玥等<sup>[7]</sup>研究也发现不同植茶年限内均存在可形成菌根真菌的球囊菌门真菌,而从枝菌根真菌具有提高茶树抗旱性<sup>[32]</sup>、促进茶树生长等作用<sup>[33]</sup>。不同植茶年限表层土壤真菌多样性指数、亚表层丰富度指数均无显著差异,这与张玥等<sup>[7]</sup>不同植茶年限土壤真菌丰富度指数无显著差异的研究结果类似。本研究中真菌均匀度指数与 pH 呈显著正相关,表明茶园土壤酸化导致真菌均一性降低。总体来看,尽管植茶后表层和亚表层土壤真菌数量都显著高于植茶前的林地土壤,但随植茶年限增加土壤真菌数量均呈下降趋势。茶园土壤微生物群落有从 F/B 较低的“细菌型”向 F/B 较高的“真菌型”转变的趋势,具体表现为 T0 年限土壤微生物为细菌主导型,而 T48 年限则演变为真菌主导型。细菌型与真菌型土壤分别是高土壤肥力和地力衰竭的象征<sup>[34]</sup>,这种转变与施用尿素增加了土壤真菌的磷脂脂肪酸含量<sup>[35]</sup>及真菌比细菌更能适应不断酸化的土壤环境有关<sup>[36]</sup>。土壤 C/N 是影响土壤微生物群落的重要因素之一,有研究指出在 C/N 比较高的偏酸性土壤中,真菌生长比细菌更为旺盛<sup>[37]</sup>。本研究中细菌、真菌数量虽均与 C/N 呈显著负相关,但表层土壤的 F/B 与 C/N 呈显著正相关,这与 Fierer 等<sup>[38]</sup>通过 qPCR 方法得出的土壤微生物群落的真菌主导型与土壤 C/N 间存在正相关关系的结果一致,表明土壤 C/N 是导致土壤从细菌主导型转为真菌主导型的重要因素之一。MRT 分类将真菌群落通过有机碳分为植茶前和植茶后 2 组,表明有机碳含量是影响植茶前后土壤真菌群落结构变异的主要因素。Li 等<sup>[39]</sup>研究也表明,集约经营人工林中土壤真菌群落组分的变化与土壤有机碳组分密切相关。MRT 分析能将不同植茶年限细菌群落分开却不能将真菌群落分开的结果,进一步验证了细菌群落对植茶年限变化的响应比真菌更敏感的结论。本研究中,长期植茶(T48)导致土壤养分含量下降,土壤细菌群落结构明显改变,而真菌群落结构改变不显著。细菌多样性和细菌、真菌数量的显著下降导致土壤生态系统结构失衡,可能会影响茶叶的产量与品质。因此,在茶园生产管理过程中,通过一定的措施修复高龄茶园土壤微生物群落结构,对延缓茶园衰老、促进茶园可持续高产有重要意义。

感谢中国农业科学院茶叶研究所倪康老师、杨向德博士在土壤样品采集中给予的支持;感谢浙江农林大学蔡延江教授在试验过程中的指导, Ali Hamdy Elnaggar 博士(后)在英文摘要修改中给予帮助。

责任编辑 肖红

## 参考文献

- [1] 林生, 庄家强, 陈婷, 等. 福建安溪不同年限茶树土壤养分与微生物 Biolog 功能多样性的差异分析. 中国生态农业学报, 2012, 20 (11): 1471-1477 [Lin S, Zhuang J-Q, Chen T, et al. Analysis of nutrient and microbial biolog function diversity in tea soils with different planting years in Fujian Anxi. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2012, 20 (11): 1471-1477]
- [2] Li W, Zheng ZC, Li TX, et al. Effect of tea plantation age on the distribution of soil organic carbon fractions within water-stable aggregates in the hilly region of Western Sichuan, China. *Catena*, 2015, 133: 198-205
- [3] 余继忠, 徐家明, 黄海涛, 等. 重修剪、台刈和改植换种三种茶园改造方式的比较. 茶叶科学, 2008, 28 (3): 221-227 [Yu J-Z, Xu J-M, Huang H-T, et al. Comparison on the different rehabilitation methods of heavy pruning, collar pruning and replanting. *Journal of Tea Science*, 2008, 28 (3): 221-227]
- [4] 王海斌, 陈晓婷, 丁力, 等. 土壤酸度对茶树根际土壤微生物群落多样性影响. 热带作物学报, 2018, 39 (3): 448-454 [Wang H-B, Chen X-T, Ding L, et al. Effect of soil acidity on microbial diversity in rhizospheric soils of tea plants. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2018, 39 (3): 448-454]
- [5] Yang XD, Ma LF, Ji LF, et al. Long-term nitrogen fertilization indirectly affects soil fungi community structure by changing soil and pruned litter in a subtropical tea (*Camellia sinensis* L.) plantation in China. *Plant and Soil*, 2019, 444: 409-426
- [6] 张帅, 卢杉杉, 潘荣艺, 等. 茶园土壤酸化研究进展. 茶叶, 2019, 45 (1): 17-23 [Zhang S, Hu S-S, Pan R-Y, et al. Research progress on soil acidification of tea garden. *Journal of Tea*, 2019, 45 (1): 17-23]
- [7] 张玥, 胡云飞, 王树茂, 等. 茶园年限对根际土壤真菌群落结构及多样性的影响. 应用与环境生物学报, 2018, 24 (5): 972-977 [Zhang Y, Hu Y-F, Wang S-M, et al. The structure and diversity of the fungal community in rhizosphere soil from tea gardens of different ages. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2018, 24 (5): 972-977]
- [8] 李贞霞, 陈倩倩, 胡宏赛, 等. 信阳茶区不同植茶年限土壤酶活性演变. 生态环境学报, 2018, 27 (6): 1076-1081 [Li Z-X, Chen Q-Q, Hu H-S, et al. The evolution of soil enzyme activities in different tea plantation ages in Xinyang tea-producing area. *Ecology and Environmental Sciences*, 2018, 27 (6): 1076-1081]
- [9] 林生, 庄家强, 陈婷, 等. 不同年限茶树根际土壤微生物群落 PLFA 生物标记多样性分析. 生态学杂志, 2013, 32 (1): 64-71 [Lin S, Zhuang J-Q, Chen T, et al. Microbial diversity in rhizosphere soils of different planting year tea trees: An analysis with phospholipid fatty acid biomarkers. *Chinese Journal of Ecology*, 2013, 32 (1): 64-71]
- [10] 范利超, 韩文炎, 李鑫, 等. 茶园及相邻林地土壤 N<sub>2</sub>O 排放的垂直分布特征. 应用生态学报, 2015, 26 (9): 2632-2638 [Fan L-C, Han W-Y, Li X, et al. Vertical distribution characteristics of N<sub>2</sub>O emission in tea garden and its adjacent woodland. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26 (9): 2632-2638]
- [11] 刘丽, 徐明恺, 汪思龙, 等. 杉木人工林土壤质量演变过程中土壤微生物群落结构变化. 生态学报, 2013, 33 (15): 4692-4706 [Liu L, Xu M-K, Wang S-L, et al. Effect of different *Cunninghamia lanceolata* plantation soil qualities on soil microbial community structure. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33 (15): 4692-4706]
- [12] Wang SQ, Li TX, Zheng ZC, et al. Soil aggregate-associated bacterial metabolic activity and community structure in different aged tea plantations. *Science of the Total Environment*, 2019, 654: 1023-1032
- [13] 王海斌, 陈晓婷, 丁力, 等. 连作茶树根际土壤自毒潜力、酶活性及微生物群落功能多样性分析. 热带作物学报, 2018, 39 (5): 852-857 [Wang H-B, Chen X-T, Ding L, et al. Analysis on autotoxic potential, enzyme activity and microbial community function diversity of the rhizosphere soils from tea plants with continuous cropping years. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2018, 39 (5): 852-857]
- [14] 王海斌, 陈晓婷, 丁力, 等. 不同树龄茶树根际土壤细菌多样性的 T-RFLP 分析. 应用与环境生物学报, 2018, 24 (4): 775-782 [Wang H-B, Chen X-T, Ding L, et al. Using T-RFLP technology to analyze bacterial diversity in the rhizospheric soils of tea tree at different ages. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2018, 24 (4): 775-782]
- [15] 韩文炎, 王皖蒙, 郭赞, 等. 茶园土壤细菌丰度及其影响因子研究. 茶叶科学, 2013, 33 (2): 147-154 [Han W-Y, Wang W-M, Guo Y, et al. Bacterial abundance of tea garden soils and its influencing factors. *Journal of Tea Science*, 2013, 33 (2): 147-154]
- [16] 叶晶, 何立平, 李东宾, 等. 土地整理对土壤微生物群落多样性的影响. 应用生态学报, 2016, 27 (4): 1265-1270 [Ye J, He L-P, Li D-B, et al. Effect of land consolidation on soil microbial community diversity. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27 (4): 1265-1270]
- [17] Strickland MS, Rousk J. Considering fungal: Bacterial dominance in soils-Methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42: 1385-1395
- [18] Fierer N, Jackson JA, Vilgalys R, et al. Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays. *Applied and environmental microbiology*, 2005, 71: 4117-4120
- [19] 薛冬, 姚槐应, 黄昌勇, 等. 茶园土壤微生物群落基因多样性. 应用生态学报, 2007, 18 (4): 843-847 [Xue D, Yao H-Y, Huang C-Y, et al. Genetic diversity of microbial communities in tea orchard soil. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18 (4): 843-847]
- [20] 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 [Lu R-K. Analytical Methods for Soil and Agro-chemistry. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999]
- [21] Tiquia MS. Microbial community dynamics in manure composts based on 16S and 18S rDNA T-RFLP profiles. *Environmental Technology*, 26: 1101-1114
- [22] 文东新, 杨宁, 杨满元. 衡阳紫色土丘陵坡地植被恢复对土壤微生物功能多样性的影响. 应用生态学报, 2016, 27 (8): 2645-2654 [Wen D-X, Yang N, Yang M-Y. Effects of re-vegetation on soil microbial functional diversity in purple soils at different revegetation stages on sloping-land in Hengyang, Hunan Province. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27 (8): 2645-2654]
- [23] 赵杏, 钟一铭, 杨京平, 等. 不同植茶年限土壤碳氮养分及胞外酶对于旱胁迫的响应. 生态学报, 2017, 37 (2): 387-394 [Zhao X, Zhong Y-M, Yang J-P, et al. The response of soil nutrients (carbon and nitrogen) and extracellular enzyme

- activities to drought in various cultivation ages from tea orchards. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37 (2): 387-394]
- [24] 郑子成, 王永东, 李廷轩, 等. 退耕对土壤团聚体稳定性及有机碳分布的影响. 自然资源学报, 2011, 26 (1): 119-127 [Zheng Z-C, Wang Y-D, Li T-X, et al. Effect of abandoned cropland on stability and distributions of organic carbon in soil aggregates. *Journal of Natural Sources*, 2011, 26 (1): 119-127]
- [25] Wang SQ, Li TX, Zheng ZC, et al. Soil organic carbon and nutrients associated with aggregate fractions in a chronosequence of tea plantations. *Ecological Indicators*, 2019, 101: 444-452
- [26] 杨扬, 刘炳君, 房江育, 等. 不同植茶年龄茶树根际与非根际土壤微生物及酶活性特征研究. 中国农学通报, 2011, 27 (27): 118-121 [Yang Y, Liu B-J, Fang J-Y, et al. The study on characteristics of microbes and enzyme activity in rhizosphere and out-rhizosphere soil of tea garden at various ages. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27 (27): 118-121]
- [27] 韩文炎, 阮建云, 林智, 等. 茶园土壤主要营养障碍因子及系列茶树专用肥的研制. 茶叶科学, 2002, 22 (1): 70-74 [Han W-Y, Ruan J-Y, Lin Z, et al. The major nutritional limiting factors in tea soils and development of tea speciality fertilizer series. *Journal of Tea Science*, 2002, 22 (1): 70-74]
- [28] Han WY, Kemmitt SJ, Brookes PC. Soil microbial biomass and activity in Chinese tea gardens of varying stand age and productivity. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39: 1468-1478
- [29] Xue D, Yao HY, Huang CY. Microbial biomass, N mineralization and nitrification, enzyme activities, and microbial community diversity in tea orchard soils. *Plant and Soil*, 2006, 288: 319-331
- [30] Pandey A, Palni LMS. The rhizosphere effect of tea on soil microbes in a Himalayan monsoonal location. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 21: 131-137
- [31] 张明锦, 陈良华, 张健, 等. 马尾松人工林林窗内凋落叶微生物生物量碳和氮的动态变化. 应用生态学报, 2016, 27 (3): 672-680 [Zhang M-J, Chen L-H, Zhang J, et al. Dynamics of microbial biomass carbon and nitrogen during foliar litter decomposition under artificial forest gap in *Pinus massoniana* plantation. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27 (3): 672-680]
- [32] 许平辉, 王飞权, 齐玉岗, 等. 丛枝菌根真菌对茶树抗旱性的影响. 西北农业学报, 2017, 26 (7): 1033-1040 [Xu P-H, Wang F-Q, Qi Y-G, et al. Effect of arbuscular mycorrhiza fungi on drought resistance in tea plant (*Camellia sinensis*). *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2017, 26 (7): 1033-1040]
- [33] Singh S, Pandey A, Kumar B, et al. Enhancement in growth and quality parameters of tea (*Camellia sinensis* L., O. Kuntze) through inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi in an acid soil. *Biology and Fertility of Soils*, 2010, 46: 427-433
- [34] 王飞, 李世贵, 徐凤花, 等. 连作障碍发生机制研究进展. 中国土壤与肥料, 2013 (5): 6-13 [Wang F, Li S-G, Xu F-H, et al. The research progress on mechanism of continuous cropping obstacle. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2013 (5): 6-13]
- [35] Ge CR, Xue D, Yao HY. Microbial biomass, community diversity, and enzyme activities in response to urea application in tea orchard soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2010, 41: 797-810
- [36] Bardgett RD, Lovell RD, Hobbs PJ, et al. Seasonal changes in soil microbial communities along a fertility gradient of temperate grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31: 1021-1030
- [37] 陈志豪, 梁雪, 李永春, 等. 不同施肥模式对雷竹林土壤真菌群落特征的影响. 应用生态学报, 2017, 28 (4): 1168-1176 [Chen Z-H, Liang X, Li Y-C, et al. Effects of different fertilization regimes on soil fungal communities under *Phyllostachys violascens* stand. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, 28 (4): 1168-1176]
- [38] Fierer N, Strickland MS, Liptzin D, et al. Global patterns in belowground communities. *Ecology Letters*, 2009, 12: 1238-1249
- [39] 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. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 107: 19-31