

赵茜, 施龙清, 黄世勇, 等. 西班牙河碳酸盐岩对茶园土壤状况和土壤细菌群落的影响 [J]. 福建农业学报, 2020, 35 (9): 1026–1033.

ZHAO Q, SHI L Q, HUANG S Y, et al. Effects of Spanish River Carbonatite on Soil and Bacterial Community at Tea Plantations [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 35 (9): 1026–1033.

西班牙河碳酸盐岩对茶园土壤状况和土壤细菌群落的影响

赵茜^{1,2,3,4}, 施龙清^{1,5}, 黄世勇⁶, 丁鲁平⁷, Liette Vasseur⁸, 杨广^{1,2,3,4*}

(1. 闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室/福建农林大学应用生态研究所, 福建 福州 350002; 2. 福建农林大学教育部害虫生态防控国际合作联合实验室, 福建 福州 350002; 3. 农业农村部闽台作物有害生物综合治理重点实验室, 福建 福州 350002; 4. 害虫绿色防控福建省高等学校重点实验室, 福建 福州 350002; 5. 福建省农业科学院水稻研究所, 福建 福州 350019; 6. 武夷山市种子站, 福建 武夷山 354300; 7. 博莱生态农业科技有限公司, 北京 100000; 8. 加拿大布鲁克大学生物科学系, 安大略 圣凯瑟琳斯 L2S3A1)

摘要:【目的】探讨西班牙河碳酸盐岩 (Spanish river carbonatite, SRC) 对茶园土壤酸化、重金属以及土壤细菌多样性和群落结构的影响, 为茶园土壤改良提供科学依据。【方法】通过盆栽和大田试验, 应用 pH 计、原子荧光法以及高通量测序技术分析施用 SRC 对茶园土壤 pH、重金属含量以及细菌群落的影响。【结果】大田和盆栽试验均表明添加 SRC 可提高茶树种植土壤的 pH 值, 盆栽试验表明低浓度的 SRC 的施入量就可显著降低土壤中 Cd、Cu 的含量, 大田试验表明 SRC 的施用可显著降低 8 种重金属的含量; 盆栽试验表明 SRC 对土壤微生物的组成有显著影响, 大田试验表明施用 SRC 可提高土壤养分。【结论】施用 SRC 可显著改良茶园土壤, 改良土壤重金属污染, 增加茶园土壤的养分。

关键词: 西班牙河碳酸盐 (SRC); 茶园; 土壤酸化; 土壤重金属; 细菌多样性; 细菌群落结构

中图分类号: S 154

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2020) 09-1026-08

Effects of Spanish River Carbonatite on Soil and Bacterial Community at Tea Plantations

ZHAO Qian^{1,2,3,4}, SHI Longqing^{1,5}, HUANG Shiyong⁶, DING Luping⁷, Liette Vasseur⁸, YANG Guang^{1,2,3,4*}

(1. State Key Laboratory of Ecological Pest Control for Fujian and Taiwan Crops/Institute of Applied Ecology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2. Joint International Research Laboratory of Ecological Pest Control, Ministry of Education, Fuzhou, Fujian 350002, China; 3. Key Laboratory of Integrated Pest Management for Fujian-Taiwan Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Fuzhou, Fujian 350002, China; 4. Key Laboratory of Green Pest Control for Universities in Fujian Province, Fuzhou, Fujian 350002, China; 5. Rice Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350019, China; 6. Wuyishan Seed Station, Wuyishan, Fujian 354300, China; 7. The Bolai Eco-Agriculture Technology Co., Ltd., Beijing 10000, China; 8. Department of Biological Sciences, Brock University, St. Catharines, ON L2S3A1, Canada)

Abstract: 【Objective】 Effects of Spanish river carbonatite (SRC) on acidification and metal elements in soil and structure and diversity of microbial community at tea plantations were investigated. 【Method】 Changes on pH, heavy metals, and microbial community in the soil under SRC application were monitored for evaluation. 【Result】 The field and pot culture experiments showed that SRC addition alleviated acidification and heavy metal pollution in the soil. In the pot culture, low concentration of SRC significantly reduced the contents of Cd and Cu in soil. Whereas, the field experiment showed significant

收稿日期: 2020-06-10 初稿; 2020-07-14 修改稿

作者简介: 赵茜 (1986-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 生态农业 (E-mail: zhaoqian977228@126.com)

* 通信作者: 杨广 (1973-), 男, 教授, 研究方向: 生态农业 (E-mail: yxg@fafu.edu.cn)

基金项目: 政府间国际科技创新合作重点专项 (2016YFE0102100); 闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室开放课题基金 (SKL2018005); 福建农林大学茶产业链科技创新与服务体系建设项目 (K1520007A03)

reductions on all tested heavy metals. In comparison to control, SRC addition exerted a significant impact on the microbial community structure in the pot culture, and increased the nutrient contents facilitating the microbial growth in the field test.

【Conclusion】 Both field and pot experiments demonstrated the desirable rise on pH, decline on heavy metals content, and improvements on microbial diversity and community structure in the soil by the incorporation of SRC.

Key words: Spanish river carbonatite; tea plantation; soil acidification; soil heavy metal; bacterial diversity; bacterial community structure

0 引言

【研究意义】福建省是中国乌龙茶之乡，是名茶铁观音、武夷岩茶的发源地，位居中国重点产茶省份之首。土壤作为茶树生长赖以生存的营养来源，其酸化程度对茶树的生长及茶叶的品质有重要影响。然而，目前福建省土壤 pH 值适宜茶树生长的茶园比例还不足 15%，pH 值在 4.5 以下的茶园占比 87%^[1]，茶园土壤酸化成为影响茶树生长、茶叶品质的关键因素。土壤酸化不仅造成钙离子、锰离子、钾离子等大量流失，大大降低土壤磷、钼和硼的有效性，致使土壤肥力显著下降^[1-2]，而且可导致重金属元素的活化^[3]，重金属在土壤中的不断积累，最终可通过茶叶危害人类健康，成为茶叶质量安全的主要限制因素^[4-6]。除此之外，土壤酸化还会减少土壤中有益微生物的活性和数量，进而影响土壤中碳、氮、硫、磷等的循环^[3]，导致茶树根的发育受阻，阻止养分的吸收^[7]，最终影响茶树生长和茶叶品质。因此，有效缓解茶园土壤酸化进程，对提高茶叶品质和发展茶叶质量安全生产等具有重要的意义。

【前人研究进展】茶树属于喜酸植物，但是由于长期施肥不合理以及茶树特性^[2]，导致我国茶园土壤酸化程度日益严重。土壤酸化可带来一系列问题，首先是土壤重金属的活化^[8]；茶园土壤酸度降低会导致土壤吸附重金属离子的能力降低，从而活化重金属，使重金属溶解性、移动性和有效性增加^[9]。目前，我国农田重金属污染主要分为 5 种健康风险元素，包括 Cd、As、Hg、Pb 和 Cr；以及 3 种生态风险元素，包括 Ni、Cu 和 Zn^[10]。鉴于茶园重金属污染主要暴露途径是通过茶叶对人体健康造成损害，因此茶园重金属污染主要检测上述 5 种健康风险元素，其中更以 Cd 为主^[10]。钟晓兰等^[11]的研究发现，土壤酸性增加能增强土壤活性态 Cd 的含量，且随着 pH 的降低，Cd 活化能力增高，土壤 Cd 含量越高。其次，茶园土壤酸化可导致土壤有益微生物的活性降低和菌落组成减少^[8, 12]。茶园微生物具有固氮、解磷、释钾、分解有机物和保持土壤保湿性等作用，

可以有效调节茶园生态，促进茶的芽萌发，影响茶树次生代谢。除此之外，还可以帮助合成茶叶特殊的芳香物质，对茶树生长、茶叶品质提高具有积极的影响^[12-13]。然而，随着近年来茶园集约化的高强度生产，福建省茶园土壤酸化呈加重趋势。因此，为了有效遏制土壤酸化、确保农产品的食品安全生产，需要找到快速、有效遏制的防治策略。西班牙河碳酸盐岩（Spanish river carbonatite, SRC）作为酸性土壤调理剂、草碳堆肥和矿物肥料，具有碱性强，微量元素高、有害元素低等优势，已在加拿大、俄罗斯等国家应用^[14-15]。在我国，SRC 已证明可以显著改良蔬菜种植土壤的酸性，例如，陈云峰等^[15]采用大田和室内试验证明 SRC 对种植小白菜的土壤酸性具有明显的改良效果。【本研究切入点】然而，SRC 对于茶园土壤酸化的改良效果还未可知，其在茶园的相关应用调查还未见报道。【拟解决的关键问题】为验证 SRC 在茶园土壤改良方面的应用潜力，采用盆栽和大田试验分别验证 SRC 对土壤酸性、土壤重金属及土壤微生物的影响，测定土壤 pH 值、重金属含量、并利用高通量测序技术检测微生物群落结构，评估 SRC 对茶园土壤理化性质改良和修复的情况，以有效减缓茶园土壤酸化进程，保障茶园可持续发展。

1 材料与方法

1.1 室内试验设计

室内试验所用土壤为红壤，取自福建农林大学南区茶园温室土壤，pH 6.13。本研究在不施化肥条件下进行。新鲜土壤粉碎，去除枯枝落叶等杂质后，过 3 cm 筛子备用。取 7 份土壤，其中 3 份土壤（每份土壤重量不少于 200 g）进行微生物多样性检测，并测定 pH 值及 8 种重金属（Cd、Pb、Cr、Cu 和 Zn、Ni、Hg、As）的含量 [CK (2017)]。本研究所用的碳酸盐岩由博莱生态农业科技有限公司提供，主要成分 SiO₂ 24.6%、CaO 28.3%、N 0.30%、P₂O₅ 3.13%、K₂O 1.07%、pH 8.92，容重 1.52 g·cm⁻³，为颗粒状固体。剩余 4 份土壤分别按体积比土壤：

SRC=80 : 20、90 : 10、95 : 5 和 99 : 1 进行混合 (即分别对应为处理组 20%SRC、10%SRC、5%SRC 和 1%SRC), 同时留一组土壤不掺入 SRC, 作为对照。每个处理组或对照土壤分别装入 3 个花盆 (45 cm×20 cm×15 cm, 长×宽×高), 每个花盆种植 2 年生毛蟹品种茶树苗 10 株。茶苗在室外恢复半月后移至室内条件, LED 灯光照, 光周期 12 h : 12 h, 温度 (28±1) °C, 相对湿度 (70±5) %, 生长至 2018 年 6 月 12 日 [CK (2018)], 每个花盆内取土约 50 g 进行微生物多样性检测分析以及 pH 值测定, 并检测 Cd、Pb、Cr、Cu 和 Zn、Ni、Hg、As 等 8 种重金属的含量。

1.2 大田试验设计

试验地位于福建省泉州市安溪西坪镇红星茶场内茶园 (简称红星茶园, 25°0'15.76"N, 117°52'0.04"E; 海拔 700~750 m)。茶园面积约 40 000 m², 该茶园试验地为有机试验茶园, 不施用化肥、农药等。该地区属于亚热带湿润季风气候, 气温在 16~19 °C, 年降水量在 1 700~2 100 mm。茶园种植茶树品种为毛蟹, 种植年限在 50 年以上, 茶园土壤为红壤。2018 年 7 月 14 日, 在茶园选择 6 块茶树地块, 每块地面积约 300 m²。在 6 块试验地利用 5 点取样法采取土样, 采样部位选自茶树与施肥沟的中央位置, 去除表面枯枝落叶层后 0~20 cm 的土层。利用工兵铲和锄头挖掘采样断面, 用竹铲去除与工具接触的部分后, 在整个断面层均衡取样, 土壤样本混合均匀后分为 3 份, 用于土壤微生物多样性检测、pH 值测定, 以及 Cd、Pb、Cr、Cu、Zn、Ni、Hg 和 As 等 8 种重金属的含量检测。随后, 在 6 块试验地中随机选择 3 块, 按 1 120 kg·hm⁻² 在茶树主干土壤附近撒施 SRC。2019 年 10 月 14 日, 在 6 块试验地按上述方法取土壤进行微生物、pH 值及重金属检测。

1.3 土壤 pH、重金属含量分析

取土样 10 g 放入 50 mL 烧杯中, 加入 25 mL 水, 用玻璃棒剧烈搅动 2 min, 静置 30 min, 用台式 pH 计 [型号: FF28, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司, METTLER TOLEDO] 进行检测。

土样中 Hg 和 As 的含量使用原子荧光法进行测定, 详细方法参照国家标准《土壤质量 总汞、总砷、总铅的测定 原子荧光法 GB/T 22105.1—2008》; 其他 6 种重金属采用原子吸收分光光度法进行检测, 参考标准为《土壤质量 铅、镉的测定 石墨炉原子吸收分光光度法 GB/T 17141—1997》、《土壤总铬的测定 火焰原子吸收分光光度法 HJ 491—2009》、

《土壤质量 锌、铜的测定 火焰原子吸收分光光度法 GB/T 17138—1997》、《土壤质量 镍的测定 火焰原子吸收分光光度法 GB/T 17139—1997》。

1.4 土壤细菌 DNA 的提取和纯化

用 DNeasy Power Soil Kit (QIAGEN, Inc., Netherlands) 试剂盒进行微生物总 DNA 的提取, 并将提取的 DNA 保存于 -20 °C 冰箱内。分别用 NanoDrop ND-1000 核酸检测仪 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 和 0.8% 琼脂糖凝胶电泳对提取的 DNA 进行品质检测; 同时采用紫外分光光度计对提取的 DNA 进行定量。

以细菌核糖体 RNA 等能够反映菌群组成和多样性的目标序列为靶点, 以稀释后的 DNA 作为模板, 应用带 Barcode 的特异引物 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 907R (5'-CCGTC AATTCMTTTRAGTTT-3') 对细菌 16S V4 区进行 PCR 扩增, PCR 采用 25 μL 反应体系: 2×Phanta Max Buffer 12.5 μL, 上下游引物各 1 μL, DNA 模板 1 μL, Phanta Max Super-Fidelity DNA Polymerase 0.5 μL, dNTP Mix 0.5 μL, ddH₂O 8.5 μL, 使用 PCR 仪器是 Bio-rad T100 梯度 PCR 仪。程序设定为: 98 °C 预变性 2 min; 25 个循环 (98 °C 变性 15 s; 55 °C 退火 30 s; 72 °C 延伸 30 s); 然后 72 °C 延伸 5 min。PCR 产物使用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测。将 PCR 扩增产物用磁珠纯化回收。将纯化回收的 PCR 产物进行荧光定量, 荧光试剂为 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit, 定量仪器为 Microplate reader (BioTek, FLx800)。根据荧光定量结果, 按照每个样本的测序量需求, 对各样本按相应比例进行混合。

1.5 土壤细菌 DNA 多样性分析

依照 Illumina 公司的 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 制备测序文库流程进行文库制备; 通过 2% 琼脂糖凝胶电泳, 对文库做最终的片段选择与纯化。上机测序前, 需要先对文库在 Agilent Bioanalyzer 上进行质检, 采用 Agilent High Sensitivity DNA Kit。合格的文库有且只有单一的峰, 且无接头, 之后, 采用 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit 在 Promega QuantiFluor 荧光定量系统上对文库进行定量, 合格的文库浓度应在 2 nmol·L⁻¹ 以上; 将合格的各上机测序文库 (Index 序列不可重复) 梯度稀释后, 根据所需测序量按相应比例混合, 并经 NaOH 变性为单链进行上机测序; 使用 MiSeq 测序仪进行双端测序。

通过质量初筛的原始序列按照 index 和 barcode 信息, 进行文库和样本划分, 并去除 barcode 序列。利用 FLASH (v 1.2.7) 对每个样本的 reads 进行拼接。

本研究主要利用 QIIME 和 R (v3.2.0) 包对数据进行分析。利用 QIIME 对细菌进行 OUT 聚类, 并计算细菌的多样性指数, 包括丰富度指数 (CHAO1、ACE)、辛普森多样性指数 (Simpson index)、香农多样性指数 (Shannon diversity index)。利用 R 包进行细菌群落间差异性分析 (*t* test 以及 Monte Carlo permutation test)。同时, 为了降低噪音, 利用 R 包 (v3.2.0), 选取了丰度前 5% 的菌落进行属水平的主成分分析 (PCA)。并对所选取的丰度前 5% 的菌落, 利用聚类分析 (Hierarchical clustering) 的方法, 基于非加权组平均法 (Unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA) 评价不同土壤样本之间的相似度。

2 结果与分析

2.1 SRC 对室内盆栽茶树土壤 pH 及重金属的改良

与 2017 年处理前土样相比, 2018 年对照组土样 pH 值有降低, 但是降低的并不显著 (表 1), 说明较短时间 (如一年内) 种植茶树不能显著改变土壤 pH。然而, 种植茶树可显著影响土壤重金属的含量。如室内盆栽种植茶苗一年后, 土壤中的重金属

Cr、Pb、Ni、As、Zn 的含量发生显著富集 (表 1)。为了探索 SRC 对土壤酸碱度、重金属的调节作用, 分析了 4 种 SRC 浓度对土壤的改良效果, 结果显示: 与 2018 年对照组相比 (5.93 ± 0.09), 4 组 SRC 处理对土壤的酸化均有调节作用, 其中施入 10% SRC 对土壤酸碱度改良效果最为显著 (6.60 ± 0.54)。从重金属上看, SRC 效果显著, 1% SRC 的施入量就可显著降低土壤中 Cd 的含量。低浓度的 SRC (1%~5%) 施入对一些重金属含量的降低效果并不理想, 甚至使有些重金属含量升高; 说明必须要较高浓度的 SRC 施入量才可改良土壤的重金属含量, 然而, 高浓度的 SRC 施入 (20%SRC) 并不能有效降低 Hg 含量。同时, 发现土壤的 pH 值并不能随着 SRC 浓度的升高而升高, 例如, 20% SRC 施入量的土壤 pH 值低于 10% SRC 施入量的土壤 pH 值。这一结果与前人的研究相似, 陈云峰等^[15] 在研究 SRC 对蔬菜种植土壤酸性改良中, 发现土壤 pH 值提升效果与施用量并不存在正相关关系。因此, 认为高浓度的 SRC 施入 (>10%) 对茶园土壤有一定的改良作用。

表 1 室内 SRC 处理对土壤 pH 值及重金属含量的影响

Table 1 Effects of SRC on pH and heavy metals in pot soil

指标 Index	CK (2017)	CK (2018)	1%SRC	5%SRC	10%SRC	20%SRC
pH	6.13±0.09 b	5.93±0.09 b	6.23±0.19 ab	6.10±0.06 b	6.60±0.54 a	6.10±0.15 b
Cd/ (mg·kg ⁻¹)	0.29±0.02 b	0.35±0.034 ab	0.21±0.01 c	0.21±0.02 c	0.38±0.02 a	0.11±0.001 c
Cr/ (mg·kg ⁻¹)	40.30±1.55 b	54.20±4.84 a	51.70±1.24 a	55.40±2.66 a	50.70±0.29 a	39.90±3.89 b
Pb/ (mg·kg ⁻¹)	29.10±2.02 c	39.10±4.05 ab	33.00±0.75 b	45.60±1.12 a	34.70±3.07 b	25.50±1.70 c
Cu/ (mg·kg ⁻¹)	116.70±2.90 b	104.70±9.60 b	220.80±13.50 a	221.50±12.20 a	65.50±4.80 c	30.60±2.20 d
Ni/ (mg·kg ⁻¹)	18.70±0.88 b	36.80±3.77 a	32.20±1.09 a	34.40±2.03 a	32.80±3.13 a	17.60±2.50 b
Zn/ (mg·kg ⁻¹)	149.00±7.05 b	263.30±31.80 a	227.70±8.37 a	237.20±11.00 a	232.00±27.20 a	80.90±4.09 c
Hg/ (mg·kg ⁻¹)	0.05±0.01 c	0.04±0.001 c	0.09±0.01 b	0.09±0.01 b	0.04±0.00 c	0.13±0.00 a
As/ (mg·kg ⁻¹)	4.85±0.23 b	3.82±0.37 c	6.17±0.04 a	6.60±0.24 a	3.82±0.37 c	2.58±0.24 d

注: 同行数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。表 3 同。

Note: Data with different lowercase letters indicate significant difference among treatments at $P < 0.05$. The same as Table 3.

2.2 SRC 对室内盆栽茶树土壤细菌多样性的影响

通过高通量测序数据, 共得到 802 020 条有效序列, 其中 2017 年室内种植茶树的土壤的平均有效数据为 42 289, 2018 年室内种植茶树土壤的平均有效数据为 44 959, 4 个处理组 20%SRC、10%SRC、5%SRC 和 1%SRC 的土壤样本平均有效数据分别是 41 032、46 179、49 355 以及 43 525。经过数据库比对分析及注释后, 基于 QIIME 软件, 对物种进行了 OUT 聚类。结果显示, 20%SRC 处理组 OTU 数最大

(1033.7), CK2017 对照组最小 (911.7), 且两组 OTU 数目差异显著, 表明 SRC 对于土壤细菌的物种数目具有显著影响。进一步对土壤细菌群落丰度指数 (Chao1、ACE) 以及多样性指数 (Shannon、Simpson) 进行调查, 结果显示, 施用 SRC 可一定程度上增加土壤细菌的种群丰度, 但差异不显著 (表 2)。

2.3 SRC 对室内茶树种植土壤细菌群落组成与结构的影响

表 2 室内 SRC 处理对土壤细菌多样性的影响
Table 2 Effects of SRC on microbial diversity in pot soil

样本 Samples	Simpson	Chao1	ACE	Shannon
CK (2017)	0.994 b	1 072.0 b	1 147.4 b	8.91 b
CK (2018)	0.997 a	1 223.8 ab	1 339.8 ab	9.32 a
1%SRC	0.997 a	1 323.0 a	1 451.7 a	9.36 a
5%SRC	0.996 a	1 208.7 ab	1 333.1 ab	9.17 ab
10%SRC	0.997 a	1 264.1 a	1 404.5 a	9.28 a
20%SRC	0.997 a	1 334.3 a	1 464.7 a	9.38 a

注：同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。表4同。

Note: Data with different lowercase letters indicate significant difference among treatments at $P < 0.05$. The same as Table 4.

在门水平上，对照组与 SRC 处理组中的优势菌群均为变形菌门 (Proteobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 以及放线菌门 (Actinobacteria)。然而，结果显示，茶树的种植可影响土壤细菌群落组成和结构。相较于 2017 年，种植一年茶树后，其土壤变形菌门和绿弯菌门的比例升高，但是放线菌门的比例却明显降低 (图 1-A)。SRC 处理后，这些优势菌群的结构也发生了明显的改变。土壤中的变形菌门

比例降低，绿弯菌门的比例升高，且放线菌门的比例也发生了波动 (图 1-A)；此外，各 SRC 处理组土壤中蓝藻菌 (Cyanobacteria) 比例下降明显，5%SRC、10%SRC 和 20%SRC 处理组尤为显著，比例均在 1% 以下 (对照为 3.3%)。对丰度前 5% 的细菌群落，在属水平对群落组成结构进行 PCA 分析 (图 1-B)，结果表明，SRC 处理组土壤细菌的群落组成与对照组的差异较大。

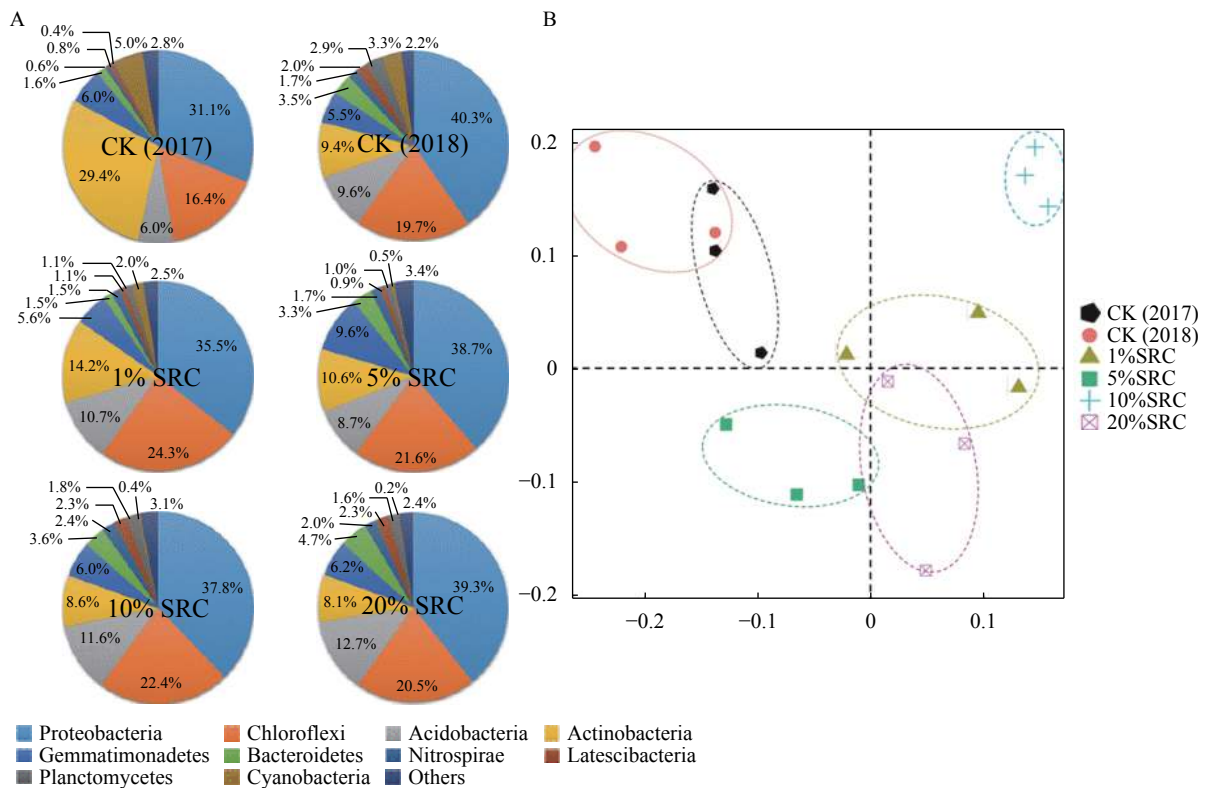


图 1 室内 SRC 处理土壤细菌群落种类分布及主成分分析

Fig. 1 PCA on species distribution of microbial community in pot soils

基于非加权组平均法 (Unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA) 评价不同土壤样本之间的相似度。发现 10%SRC 处理组土壤细菌

群落组成聚为一类 (图 2)。同时，聚类分析也发现了 1%SRC 处理的土壤重复之间差异较大，这一结果与上述 PCA 结果相同，说明 1%SRC 处理所取土

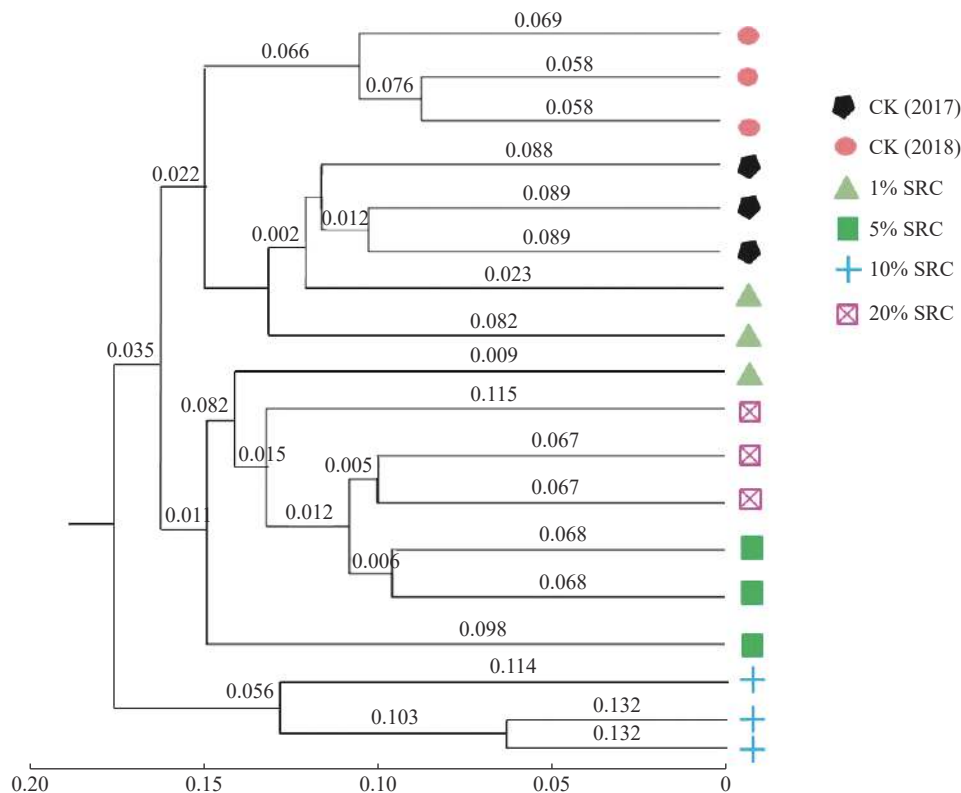


图 2 基于 UPGMA 算法的土壤细菌聚类分析

Fig. 2 UPGMA-based cluster analysis on soil microbes

壤样本细菌不均一，后续研究可通过增加重复数目来进行改良。

2.4 SRC 对茶园土壤 pH 及重金属的改良

结果显示，一年内茶树种植对茶园土壤的影响并不显著，土壤酸化或者重金属的含量变化不明显（表 3）。然而，SRC 却可以在短时间内影响茶园土壤，例如，SRC 可以在一年内明显改良土壤酸化，使土壤 pH 值显著上升（表 3）；对重金属的改良也作用明显，结果显示，施用 SRC 后，8 种土壤重金属含量均显著下降（表 3），显示了 SRC 对茶园土壤改良的潜力。

2.5 SRC 对茶园土壤细菌群落组成与结构的影响

SRC 处理后的茶园土壤细菌丰富度上升显著（表 4）。从土壤细菌种类在门水平的分布上看（图 3），土壤细菌分布比例最高为变形菌（Proteobacteria），两组对照（2018 和 2019）土壤中变形菌比例均高于 55%，分别为 57.8% 和 55.5%，但在 SRC 处理组中，这一比例降为 45.1%（图 3-A）。相比两个不同时间段的对照土样 CK2018 和 CK2019，SRC 处理组中酸杆菌（Acidobacteria）和厚壁菌（Firmicutes）比例同样下降明显。相反，拟杆菌（Bacteroidetes）和绿弯菌（Chloroflexi）比例上升显著，分别达到 9.6% 和 11.3%。属水平的 PCA 主成分分析结果表明，SRC 处理组土壤细菌群落结果与对照组差异显著（图 3-B）。

表 3 SRC 处理对茶园土壤 pH 值和重金属含量的影响
Table 3 Effects of SRC on pH and heavy metals in soils at tea plantations

指标 Index	CK 2018	CK 2019	SRC
pH	5.40±0.12 b	5.49±0.25 b	6.23±0.14 a
Cd/ (mg·kg ⁻¹)	0.16±0.01 a	0.17±0.01 a	0.10±0.01 b
Cr/ (mg·kg ⁻¹)	74.60±4.73 ab	78.30±5.31 a	63.30±2.65 b
Pb/ (mg·kg ⁻¹)	88.00±4.57 ab	102.10±10.41 a	82.20±2.90 b
Cu/ (mg·kg ⁻¹)	126.40±4.30 a	149.40±11.26 a	97.30±5.19 b
Ni/ (mg·kg ⁻¹)	83.20±4.16 a	84.90±10.45 a	68.18±6.13 b
Zn/ (mg·kg ⁻¹)	320.80±8.64 a	307.30±24.91 a	159.60±14.20 b
Hg/ (mg·kg ⁻¹)	0.06±0.01 a	0.06±0.01 a	0.04±0.01 b
As/ (mg·kg ⁻¹)	8.15±0.30 a	9.46±0.48 a	5.89±0.95 b

表 4 SRC 处理对茶园土壤细菌多样性的影响
Table 4 Effects of SRC on microbial diversity in soils at tea plantations

样本 Sample	Simpson	Chao1	Shannon
CK 2018	0.954 a	482.5 c	6.33 c
CK 2019	0.972 a	1699.7 b	7.64 b
SRC	0.997 a	3077.0 a	9.89 a

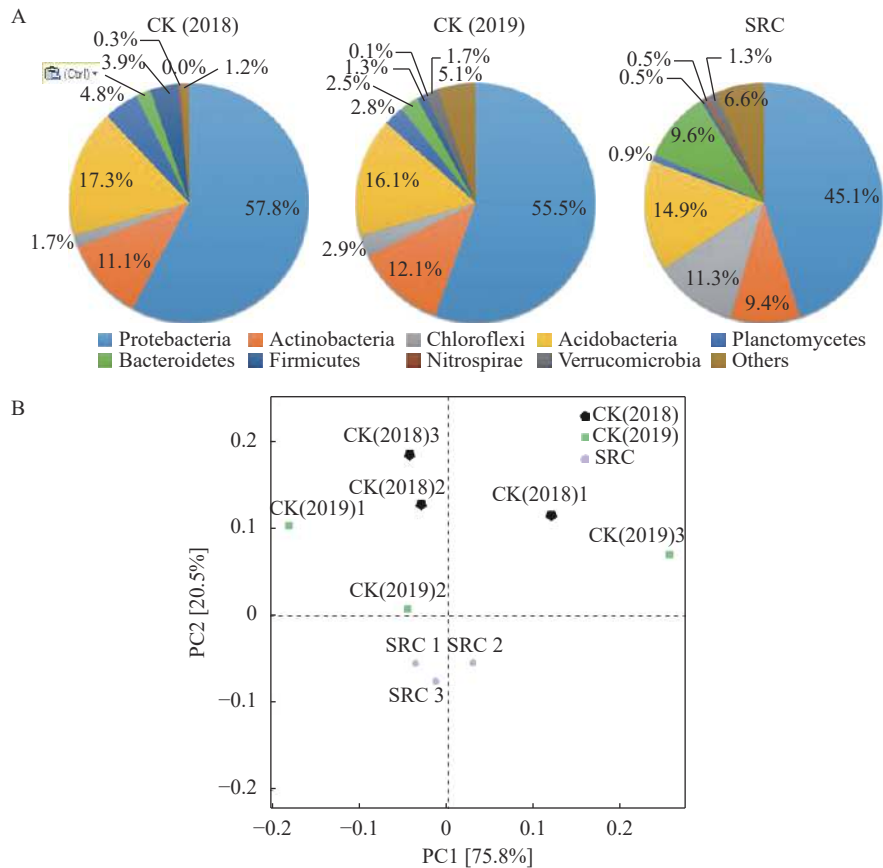


图 3 茶园 SRC 处理土壤细菌群落种类分布及主成分分析 (PCA)

Fig. 3 PCA on species distribution of microbial community in soils at tea plantations

3 讨论与结论

在不施肥的前提下, 大田和盆栽试验均表明 SRC 能明显提升土壤 pH, 说明 SRC 对于提升茶树种植土壤 pH 的效果较稳定, 对土壤 pH 的提升效果不随施用方式不同而波动。SRC 是一种火成岩, 有害元素较低、碱性较强, 磷、硅、钙、钾及微量元素较高, 能对土壤酸化起到一定的中和作用^[14-16]。盆栽试验中的 SRC 与土壤混合均匀, 而大田试验中, 本研究采取的是常用的条施方法, 施用深度在 20 cm 左右。此外, 盆栽试验说明, SRC 对土壤 pH 的提升效果不与 SRC 施用浓度成正比, 10%SRC 对土壤 pH 提升效果最好, 这与陈云峰等^[15]、James 等^[17]的研究结果一致。且 SRC 对于土壤酸化的改良效果已在其他多种经济作物上被验证, 如在芦笋、大麦等^[15]。综上所述, 对于茶园土壤逐年酸化严重的问题, 可以通过补施 SRC 来快速缓解土壤酸化问题。

本研究结果表明, 茶园土壤中富集最多的重金属为锌和铜。根据颜明娟等^[18]的调查显示, 福建地区锌含量有超标现象。此外, 叶琛等^[19]发现, 土壤中的铜、铬、镉含量与茶叶重金属含量具有较强的相关性。盆栽与大田试验发现, 添加 SRC 对重金属

污染的改良有一定的效果, 盆栽试验表明低浓度 SRC 的施入量就可显著降低土壤中 Cd 含量, 然而, 低浓度的 SRC (<10%) 对于其他重金属含量的降低效果并不显著。因此, 可通过增加碳酸盐岩施用量来解决这一问题。因此, 本研究用大剂量的 SRC 施用量来进行大田试验 (1 120 kg·hm⁻² 左右), 结果表明大剂量 SRC 的施用可显著降低 8 大重金属的含量。

微生物群落数量和活性是影响土壤肥力的重要因素^[20], 而土壤酸化可严重影响土壤微生物群落、结构, 导致有益微生物种群大量减少, 不利于茶园土壤中养分的转化^[21]。部分研究学者提出细菌可分为富营养菌和寡营养菌^[22-23], 例如, 酸杆菌门多生长于营养贫瘠的土壤环境中, 因此属于寡营养细菌^[23]。本研究发现, 相较于未施用 SRC 的茶园, 施用 SRC 的处理土壤中的酸杆菌门的相对丰度显著下降, 这也说明施用 SRC 可提高土壤养分。

综上所述, 在茶园内施用碳酸盐岩 (SRC) 可以降低土壤酸性、改良土壤重金属污染, 提高茶园土壤养分。

参考文献:

[1] 杨向德, 石元值, 伊晓云, 等. 茶园土壤酸化研究现状和展望 [J]. 茶

- 叶学报, 2015, 56 (4): 189-197.
YANG X D, SHI Y Z, YI X Y, et al. Research progress and prospects on soil acidification at tea plantations [J]. *Tea Science and Technology*, 2015, 56 (4): 189-197. (in Chinese)
- [2] WANG H, XU R K, WANG N, et al. Soil acidification of alfisols as influenced by tea cultivation in Eastern China [J]. *Pedosphere*, 2010, 20 (6): 799-806.
- [3] 徐仁扣. 土壤酸化及其调控研究进展 [J]. 土壤, 2015, 47 (2): 238-244.
XU R K. Research progresses in soil acidification and its control [J]. *Soils*, 2015, 47 (2): 238-244. (in Chinese)
- [4] 周玉婵, 李明顺. 广西两茶园土壤-茶叶-茶汤系统重金属污染及其转移特征 [J]. 农业环境科学学报, 2008, 27 (6): 2151-2157.
ZHOU Y C, LI M S. Heavy metal contamination and transportation in soil-tea leaf-tea liquor system in two tea gardens of Guangxi [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27 (6): 2151-2157. (in Chinese)
- [5] 李云, 张进忠, 童华荣. 茶园土壤和茶叶中重金属的监测与污染评价 [J]. 环境科学与技术, 2008, 31 (5): 71-75.
LI Y, ZHANG J Z, TONG H R. Monitoring and evaluation of heavy metals in soil of tea gardens and teas [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 31 (5): 71-75. (in Chinese)
- [6] 江凌, 苏火贵, 王育平, 等. 施用有机肥后安溪茶园土壤中重金属含量及污染评价 [J]. 亚热带水土保持, 2019, 31 (4): 5-8.
JIANG L, SU H G, WANG Y P, et al. Assessment of heavy metal content and pollution in tea garden soil of Anxi County after the application of organic manure [J]. *Subtropical Soil and Water Conservation*, 2019, 31 (4): 5-8. (in Chinese)
- [7] 章明奎, 方利平, 张履勤. 酸化和有机质积累对茶园土壤铅生物有效性的影响 [J]. 茶叶科学, 2005, 25 (3): 159-164.
ZHANG M K, FANG L P, ZHANG L Q. Effects of acidification and organic matter accumulation on lead bio-availability in tea garden soils [J]. *Journal of Tea Science*, 2005, 25 (3): 159-164. (in Chinese)
- [8] 郑慧芬, 吴红慧, 翁伯琦, 等. 施用生物炭提高酸性红壤茶园土壤的微生物特征及酶活性 [J]. 中国土壤与肥料, 2019 (2): 68-74.
ZHENG H F, WU H H, WENG B Q, et al. Improved soil microbial characteristics and enzyme activities with wheat straw biochar addition to an acid tea plantation in red soil [J]. *Soils and Fertilizers Sciences in China*, 2019 (2): 68-74. (in Chinese)
- [9] 樊志辉, 唐小军, 郑丹, 等. 茶园土壤酸化成因及改良措施研究和展望 [J]. 茶叶科学, 2020, 40 (1): 15-25.
FAN Z H, TANG X J, ZHENG D, et al. Study and prospect of soil acidification causes and improvement measures in tea plantation [J]. *Journal of Tea Science*, 2020, 40 (1): 15-25. (in Chinese)
- [10] 陈世宝, 王萌, 李杉杉, 等. 中国农田土壤重金属污染防治现状与问题思考 [J]. 地学前缘, 2019, 26 (6): 35-41.
CHEN S B, WANG M, LI S S, et al. Current status of and discussion on farmland heavy metal pollution pre-vention in China [J]. *Earth Science Frontiers*, 2019, 26 (6): 35-41. (in Chinese)
- [11] 钟晓兰, 周生路, 李江涛, 等. 模拟酸雨对土壤重金属镉形态转化的影响 [J]. 土壤, 2009, 41 (4): 566-571.
ZHONG X L, ZHOU S L, LI J T, et al. Effect of simulated acid rains on Cd form transformation in contaminated soil [J]. *Soils*, 2009, 41 (4): 566-571. (in Chinese)
- [12] 张帅, 户杉杉, 潘荣艺, 等. 茶园土壤酸化研究进展 [J]. 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 [J]. *Journal of Tea*, 2019, 45 (1): 17-23. (in Chinese)
- [13] 周才碧, 陈文品. 茶园土壤微生物的研究进展 [J]. 中国茶叶, 2014, 36 (3): 14-15.
ZHOU C B, CHEN W P. Research progress of soil microorganisms in tea gardens [J]. *China Tea*, 2014, 36 (3): 14-15. (in Chinese)
- [14] 郑寿龙. 施用有机肥对柑橘产量、品质及养分吸收的影响 [J]. 安徽农学通报, 2018, 24 (12): 46-47.
ZHENG S L. Effects of organic manure application on yield, quality and nutrient absorption of *Citrus* [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2018, 24 (12): 46-47. (in Chinese)
- [15] 陈云峰, 丁鲁平, 舒湘林, 等. 西班牙河碳酸盐岩对蔬菜生长、产量及土壤酸性的影响 [J]. 湖北农业科学, 2019, 58 (4): 25-27, 31.
CHEN Y F, DING L P, SHU X L, et al. Effects of Spanish river carbonatite on vegetable growth, yield and soil acidification [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2019, 58 (4): 25-27, 31. (in Chinese)
- [16] 金忠泽. “澄迈福橙”优质丰产“标准化”种植技术 [J]. 中国热带农业, 2015 (6): 74-77.
JIN Z Z. "Chengmai Fu Orange" high-quality and high-yield "standardized" planting technology [J]. *China Tropical Agriculture*, 2015 (6): 74-77. (in Chinese)
- [17] JAMES J. Spanish river carbonatite: Its benefits and potential use as a soil supplement in agriculture [D]. Ontario, Canada: Wifrid Laurier University, 2015.
- [18] 颜明娟, 吴一群, 张辉, 等. 福建茶园土壤及茶叶重金属监测及污染评价 [J]. 茶叶学报, 2016, 57 (2): 71-75.
YAN M J, WU Y Q, ZHANG H, et al. Heavy metal contaminations in plantation soils and tea products in Fujian [J]. *Tea Science and Technology*, 2016, 57 (2): 71-75. (in Chinese)
- [19] 叶琛, 李思悦, 张全发. 三峡库区消落区表层土壤重金属污染评价及源解析 [J]. 中国生态农业学报, 2011, 19 (1): 146-149.
YE C, LI S Y, ZHANG Q F. Sources and assessment of heavy metal contamination in water-level fluctuation zone of the Three Gorges Reservoir, China [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2011, 19 (1): 146-149. (in Chinese)
- [20] 陆雅海, 张福锁. 根际微生物研究进展 [J]. 土壤, 2006, 38 (2): 113-121.
LU Y H, ZHANG F S. The advances in rhizosphere microbiology [J]. *Soils*, 2006, 38 (2): 113-121. (in Chinese)
- [21] 王世强, 胡长玉, 程东华, 等. 调节茶园土壤pH对其土著微生物区系及生理群的影响 [J]. 土壤, 2011, 43 (1): 76-80.
WANG S Q, HU C Y, CHENG D H, et al. Effects of adjusting pH of tea plantation soil on indigenous microbial fauna and physiological group [J]. *Soils*, 2011, 43 (1): 76-80. (in Chinese)
- [22] YERGEAU E, BOKHORST S, KANG S, et al. Shifts in soil microorganisms in response to warming are consistent across a range of Antarctic environments [J]. *The ISME Journal*, 2012, 6 (3): 692-702.
- [23] 李艳春, 林忠宁, 陆丞, 等. 茶园间作灵芝对土壤细菌多样性和群落结构的影响 [J]. 福建农业学报, 2019, 34 (6): 690-696.
LI Y C, LIN Z N, LU Z, et al. Microbial diversity and community structure in soil under tea bushes-*Ganoderma lucidum* intercropping [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 34 (6): 690-696. (in Chinese)