

DOI: 10.5846/stxb201709211693

盛玉钰, 丛静, 卢慧, 杨开华, 杨林森, 王敏, 张于光. 神农架国家公园林线过渡带土壤真菌多样性. 生态学报, 2018, 38(15): - .
Sheng Y Y, Cong J, Lu H, Yang K H, Yang L S, Wang M, Zhang Y G. Soil fungal diversity of the timberline ecotone in Shennongjia National Park. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(15): - .

神农架国家公园林线过渡带土壤真菌多样性

盛玉钰¹, 丛 静², 卢 慧^{1,3}, 杨开华⁴, 杨林森⁴, 王 敏⁴, 张于光^{1,*}

1 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 国家林业局森林生态环境重点实验室, 北京 100091

2 青岛大学附属医院, 青岛 266061

3 中央民族大学, 生命与环境科学学院, 北京 100081

4 神农架国家公园管理局, 神农架金丝猴保育生物学湖北省重点实验室, 神农架林区 442411

摘要: 林线过渡带是陆地生态系统对气候变化响应的敏感区域, 研究林线过渡带土壤真菌的群落结构和形成机制, 对于预测气候变化对土壤养分循环和维持陆地生态系统功能的影响具有重要意义。利用 Illumina 高通量测序技术分析了神农架国家公园林线上线下的灌木林和针叶林的土壤真菌群落结构和多样性。结果表明, 在真菌物种组成上, 两种植被类型的土壤优势菌门、属和种类不同, 针叶林和灌木林的优势菌门分别是担子菌门(Basidiomycota)和接合菌门(Zygomycota)。除趋势对应分析(DCA)和不相似性检验(Dissimilarity test)表明两种林型的土壤真菌群落结构组成存在显著差异, 且针叶林土壤真菌 Shannon 指数、Chao 值和 Richness 指数均显著($P < 0.05$)高于灌木林。典范对应分析(CCA)和 Mantel 检验显示土壤真菌群落结构与土壤 pH、植物多样性、土壤温度和土壤湿度存在显著相关性。因此, 林线过渡带上下土壤真菌群落结构和多样性存在显著差异, 土壤 pH、植物多样性、土壤湿度和土壤温度可能是影响土壤真菌群落结构的重要因素。

关键词: 土壤真菌群落; 气候变化; 灌木林; 针叶林; Illumina 测序

Soil fungal diversity of the timberline ecotone in Shennongjia National Park

SHENG Yuyu¹, CONG Jing², LU Hui^{1,3}, YANG Kaihua⁴, YANG Linsen⁴, WANG Min⁴, ZHANG Yuguang^{1,*}

1 Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Key Laboratory of Forest Ecology and Environment State Forestry Administration, Beijing 100091, China

2 Qingdao University Affiliated Hospital, Qingdao 266061, China

3 College of Life and Environment Sciences, Minzu University of China, Beijing 100081, China

4 Shennongjia National Park Administration, Hubei Key Lab of Shennongjia Golden Monkey Conservation Biology, Shennongjia Forestry District 442411, China

Abstract: The timberline ecotone is a sensitive area to climate change among the terrestrial ecosystems, and it is vital to study the soil fungal community structure and its formation mechanism in the timberline ecotone to predict the effect of climate change on soil nutrient cycles and to maintain terrestrial ecosystem functions. For this, we collected soil samples from the shrub and coniferous forests of Shennongjia National Park. The soil fungal community structure and diversity were analyzed using the Illumina sequencing method. The results showed that the dominant soil fungal phyla, genera, and species differed between the two forest types. Basidiomycota was the dominant phylum in the coniferous forest, whereas Zygomycota was dominant in the shrub forest. Detrended correspondence analysis and dissimilarity test indicated that their soil fungal communities were significantly different, and the soil fungal diversity was significantly higher ($P < 0.05$) in the coniferous forest than in the shrub forest according to the Shannon index, Chao value, and richness index. Canonical correlation

基金项目: 国家自然科学基金项目(31670614, 31370145)

收稿日期: 2017-09-21; 网络出版日期: 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yugzhang@sina.com.cn

analysis and Mantel test indicated that the soil pH, plant diversity, soil moisture, and temperature had significant linkages with the soil fungal community structure. Therefore, the soil fungal community structure and diversity in the timberline ecotone were significantly different, and the factors of soil pH, plant diversity, soil moisture, and temperature were the important environmental factors that shaped the fungal community structure.

Key Words: soil fungal community; climate change; shrub forest; coniferous forest; Illumina sequencing

林线过渡带是高山郁闭森林到矮曲林之间的生态过渡带^[1],是高山垂直植被带的重要生态过渡区,是陆地生态系统对气候变化响应的敏感区域^[2-4]。研究表明,气候变化使林线过渡带位置出现向上、不变或向下等不同的响应趋势,表明林线动态变化的影响机制复杂多变^[5]。目前,有关林线区植被格局和气候变化响应^[6-8]、凋落物分解^[3]、土壤碳氮循环^[9]、幼苗建植^[10]等方面已有较多研究报导,但关于林线土壤微生物的研究相对较少,且多限于微生物的降解活性^[11]、土壤细菌多样性^[12],忽略了其土壤真菌群落结构组成和形成机制,造成林线土壤微生物的理论体系有大部分的缺失。本研究将致力于完善整个林线土壤微生物生态系统理论。

真菌是土壤微生物的主要组成部分,不仅可以有效降解土壤中复杂组分和凋落物,还可以监测土壤病理过程、驱动养分循环和能量流动,是陆地生态系统的重要健康指标^[13-15]。然而,采用传统方法分离出的真菌种类和数量却很有限^[16],难以全面和准确了解真菌群落的真实组成和分布情况。随着分子生物学的快速发展,特别是高通量测序技术的应用,人们对土壤微生物的研究和认识日渐深入。大量研究表明环境选择是微生物群落结构形成和变化的重要影响因素,土壤真菌适宜在酸性土壤中生长^[17],对土壤湿度^[18]、温度^[13,19]、养分含量^[20-21]以及不同的土壤层环境^[22]十分敏感,且不同林型对应着不同的优势菌群^[23],不同地区的主要影响因子也可能存在不同。研究林线土壤真菌群落结构组成的影响机制,将为神农架国家公园(Shennongjia National Park, SNP)的建设政策提供生态理论指导。

神农架国家公园是目前世界中纬度地区唯一保存完好的亚热带森林生态系统,其独特的地理和气候条件孕育了丰富的生物资源^[24],具有明显的高山林线过渡带分布特征,为开展林线过渡带微生物多样性及其形成机制研究提供了理想的场所^[12]。本研究选择神农架国家公园中林线上、下的灌木林和针叶林为研究对象,采用 Illumina 高通量测序技术,旨在探讨:(1)林线上、下的灌木林和针叶林的真菌群落结构组成情况;(2)影响林线过渡带土壤真菌多样性的主要环境因子。

1 研究方法

1.1 样地设置与土壤样品采集

神农架国家公园位于湖北省西北部神农架林区的西南部。神农架(31°15'—31°57'N, 109°59'—110°58'E)的神农顶高达 3105.4 m,为华中地区最高峰^[25]。属于亚热带季风气候,四季变化明显。年平均气温为 7.2℃,年均降水量为 1500 mm^[26]。神农架国家公园具有典型的植被带分布特征,从低海拔到高海拔分别为常绿阔叶林、落叶阔叶林、针阔混交林、针叶林和灌木林,其中灌木林植物盖度较低且海拔分布为 2736—2777 m,针叶林植物盖度较高且海拔分布为 2530—2590 m。在灌木林中,乔木层和灌木层的优势植物物种分别是粉红杜鹃(*Rhododendron oreodoxa*)和神农箭竹(*Fargesia murielae*),在针叶林中的优势植物物种是巴山冷杉(*Abies fargesii*)。神农架国家公园的灌木林和冷杉林具有明显的林线。

在神农架国家公园的灌木林和针叶林中分别设立采样点,记录各采样点的海拔、坡度、植被等信息(表 1)。在每个样地,连续设置 9 个 20 m×20 m 的样方,样方之间间隔约 20 m。每个样方内以对角线五点取样法设置 5 个 5 m×5 m 的小样方,用土钻(直径 4 cm)采集 0—10 cm 的土壤样品 10—15 钻,去除凋落物和碎石等,经过 2 mm 孔筛后分装,带回实验室进行进一步分析或低温保存备用。一部分(约 100 g)置于-80℃超低

温冰箱,用于 DNA 提取,另一部分(约 500 g)4℃保存,用于土壤理化性质测定。

表 1 神农架国家公园土壤采集点基本情况
Table 1 The basic information of soil sampling sites in Shennongjia National Park

样地林型 Sampling forest type	调查地点 Sampling site	海拔高度 Altitude/m	坡度 Slope	坡向 Slope direction	植被优势物种 Dominant plant species
灌木林 Shrub forest	凉风垭	2749	10°	东北	粉红杜鹃、神农箭竹 <i>Rhododendron oreodoxa</i> , <i>Fargesia murielae</i>
针叶林 Coniferous forest	金猴岭	2562	25°	西北偏 10°	巴山冷杉 <i>Abies fargesii</i>

1.2 土壤理化性质和植物参数的测定

土壤理化性质采用常规方法进行测定^[27]。包括 pH 计测定土壤 pH,烘干法测定土壤含水量,水溶解法测定水溶性有机碳,凯氏定氮法测定全氮,碱解扩散法测定有效氮,离子体发光光谱仪测量全磷、速效磷含量。采用温度探测仪测量土壤层 10 cm 温度。分别调查两个林型中的乔木层(胸径 ≥ 5 cm)和灌木层(胸径 ≤ 5 cm)的植物,记录其种名、数量、高度、盖度及多度等指标。

1.3 土壤微生物基因组 DNA 提取、纯化和定量

利用试剂盒 E.Z.N.A.® Soil DNA Kit (OMEGA, Bio-tek, USA) 提取和纯化土壤微生物 DNA,通过 NanoDrop ND-1000 分光光度计测量 DNA 溶液的浓度。DNA 浓度和纯度达到以下标准:每个 DNA 样品浓度最低达 25 ng/μL,满足 A260/280 处于 1.8—2.0 之间且 A260/230>1.7。

1.4 Illumina 测序和测序数据预处理

本试验通过 Illumina 测序平台检测 rDNA ITS2 基因片段序列,利用 Galaxy 平台(<http://mem.rcees.ac.cn:8080>)对测序原始数据进行预处理,分析两个样地中的土壤真菌物种组成情况。

采用 gITS7F (正向引物 5'-GTGARTCATCGARTCTTTG-3') 和 ITS4R (反向引物 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')^[28]对真菌的 ITS2 区段进行扩增,其中反向引物中标有不同序列的 Barcode,用于区分样品。PCR 扩增体系(50 μL)包括 5 μL 10×Taq 缓冲液,1.5 μL dNTP 混合物,0.5 μL Taq 酶,2 μL 牛血清白蛋白(5mg/mL,酶保护剂),1 μL 正向引物,1 μL 反向引物,1 μL DNA 溶液(约 25 ng/μL)和 38 μL ddH₂O。PCR 反应条件为 94℃ 预变性 1 min,35 个循环(94℃ 变性 20 s, 56℃ 退火 25 s, 68℃ 延伸 45 s),68℃ 终延伸 10 min。利用 3%的凝胶电泳检测并回收 DNA 样品,通过试剂盒 E.Z.N.A.® Gel Extraction Kit(OMEGA, Bio-tek, 美国)纯化 DNA 样品,重新测量其浓度和纯度。纯化后的 DNA 样品按照光密度值和浓度进行混合, Qubit 定量,建库,将混合样品与 PhiX 于 96℃ 变性 2 min,置于冰水混合物中 5 min,最后将样品放入试剂盒 MiSeq Reagent Kit(Illumina, San Diego, CA, USA)进行 2× 250 bp 双末端上机测序。

分别将原始序列文件以及样品与 Barcode 对应文件上传至数据平台,区分样品、去除引物(容纳 1.5 % 不匹配率)。按照 Flash^[29]算法拼接序列(最小重叠片段长度为 30 bp)。利用 Btrim 删除质量低于 20 的序列^[19],Trim N 删除长度低于 200 bp 或含有模糊碱基的序列(N)。根据序列长度分布情况,将其剪切至 240—350 bp。Uchime^[30]去除嵌合体之后,按照 Uclust 算法和 97%的相似度对可操作分类单元(Operational Taxonomic Units, OTUs)进行聚类分析。采用 RDP classifier(50%可信度)在真菌 ITS UNITE 数据库中比对物种信息。本研究将每个样品的 OTUs 之和标准化为 10000,每个样品的 OTUs 丰度为该样品的单元格/10000 的百分比。

1.5 数据分析

利用 Excel 对试验数值进行初步分析;植被多样性采用 Shannon 指数和 Richness 指数表征;真菌多样性采用 Shannon 指数、Chao 值和 Richness 指数表征;基于 R 3.1.2 的 vegan 包或者在线分析网站(<http://www.ou.edu/ieg/>)进行下列数据分析。通过除趋势对应分析(Detrended correspondence analysis, DCA)和不相似性检

验 (Dissimilarity test) 检测样地的群落结构组成差异;利用皮尔逊相关性分析 (Pearson correlation test)、典范对应分析 (Canonical correspondence analysis, CCA) 和 Mantel 分析, 得出影响真菌群落结构组成的主要环境因子, 其中 CCA 中为避免出现严重的共线性, 要求环境因子的方差因子 (Variance inflation factor, VIF) 必须小于 20^[28]; 利用 Origin 8.5 作图。利用 IBM SPSS Statistics 21 进行皮尔逊相关性分析和独立样本 T 检验。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质和植物多样性分析

从测得的土壤营养指标来看 (表 2), 灌木林的土壤养分总体高于针叶林, 全磷和有效磷含量具有显著差异 ($P < 0.01$), 有机碳、可溶性有机碳、全氮和有效氮含量无显著差异。在灌木林和针叶林样地采集的土壤样品均呈酸性, 但针叶林土壤 pH 显著高于 ($P < 0.001$) 灌木林土壤。与灌木林相比, 针叶林土壤温度偏低, 湿度偏高, 且温湿度差异显著 ($P < 0.001$)。针叶林的胸径、乔木层株高、灌木层植物密度、植物多样性和物种数目显著 ($P < 0.001$) 高于灌木林。

表 2 土壤理化性质、植被多样性和真菌多样性指数

Table 2 Soil biogeochemical properties, plant diversity and soil fungal diversity index

参数 Parameter	灌木林 Shrub forest	针叶林 Coniferous forest	P 值 (独立样本 T 检验) P value (Unpaired T-test)
土壤有机碳 Soil organic carbon / (g/kg)	61.69±4.46	62.93±4.23	0.843
水溶性土壤有机碳 Dissolved soil organic carbon / (g/kg)	0.25±0.03	0.18±0.03	0.098
全氮 Total nitrogen / (g/kg)	4.60±0.33	4.38±0.26	0.607
有效氮 Available nitrogen / (mg/kg)	0.42±0.03	0.36±0.02	0.139
全磷 Total phosphorus / (g/kg)	2.19±0.33	0.63±0.03	0.001
有效磷 Available phosphorus / (mg/kg)	8.94±0.90	5.83±0.39	0.009
土壤 pH Soil pH	4.42±0.05	4.96±0.04	<0.001
土壤湿度 Soil moisture	0.29±0.01	0.46±0.01	<0.001
土壤温度 Soil temperature / (°C)	12.13±0.13	10.78±0.15	<0.001
乔木层胸径 Diameter at breast height of canopy layer / cm	7.67±0.67	25.89±2.59	<0.001
灌木层地径 Ground diameter of shrub layer / cm	1.08±0.49	1.11±0.06	0.960
植物物种高度 Height of plants / m	乔木层 Canopy layer 4.96±0.30	19.28±2.33	<0.001
灌木层 Shrub layer 1.03±0.25		0.82±0.05	0.437
植物株数/株 Plants intensity / 400 m ²	乔木层 Canopy layer 21.78±3.26	20.00±2.32	0.662
灌木层 Shrub layer 262.78±51.39		431.22±32.16	0.013
植物物种数目 Plant species number	4.78±0.64	23.11±0.30	<0.001
植物香农指数 Plant Shannon index	0.85±0.09	2.19±0.07	<0.001
土壤真菌 ITS 香农指数 Soil fungal ITS Shannon index	2.59±0.12	3.17±0.19	0.021
土壤真菌 ITS 物种丰富度指数 Soil fungal ITS richness index	342.11±29.97	464.22±37.35	0.021
土壤真菌 ITS Chao 值 Soil fungal ITS Chao value	743.32±67.83	1113.04±113.03	0.013

数据表示形式均为平均值±标准误, P 值通过独立样本 T 检验得出

2.2 土壤真菌群落结构和多样性

通过 Illumina 测序, 共得到 2786 条不同的 ITS2 区 OTUs, 样本的序列条数分布在 13547—40799 之间。按照 10000 的值重新取样, 从灌木林土壤样品中检测出 1288 个 OTUs, 从针叶林土壤样品中检测出 2027 个 OTUs。通过分析, 发现这两个样地土壤中存在子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、接合菌门 (Zygomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota) 和球囊菌门 (Glomeromycota) 等 5 个门的真菌, 包括 226 个属和 553 个种。在门水平上, 担子菌门 ($P = 0.003$) 和接合菌门 ($P = 0.002$) 的丰度在两样地之间差异极其显著 (图 1),

壶菌门和球囊菌门的丰度不足 1%, 与未知菌门 (Unclassified) 归为其他 (Others)。在灌木林土壤中的优势真菌为接合菌门 (55.86%), 优势菌属为被孢霉属 *Mortierella* (35.07%) (表 3), 优势菌种为 *Mortierella_humilis* | SH218044.06FU (26.15%) (表 4); 而在针叶林土壤中的优势真菌为担子菌门 (67.38%), 优势菌属为隐球菌属 *Cryptococcus* (27.12%), 优势菌种为 *Cryptococcus_terricola* | SH215219.06FU (26.96%)。在担子菌门中, 针叶林土壤中的丝膜菌属 (*Cortinarius*)、丝盖伞属 (*Inocybe*)、红菇属 (*Russula*) 和蜡壳耳属 (*Sebacina*) 的丰度显著高于灌木林。

针叶林土壤真菌的 Shannon 指数、Chao 值和 richness 指数均显著高于 ($P < 0.05$) 灌木林 (表 2)。DCA 显示两个林型的真菌群落结构 (β 多样性) 差异显著 (图 2), 不相似性检验 (基于 Bray-curtis 和 manhattan 距离方法) 进一步证实这两个林型的真菌群落结构存在显著差异 (表 5)。

上述结果表明, 灌木林和针叶林在土壤真菌群落结构组成上存在显著差异, 且针叶林的土壤真菌多样性显著高于灌木林。

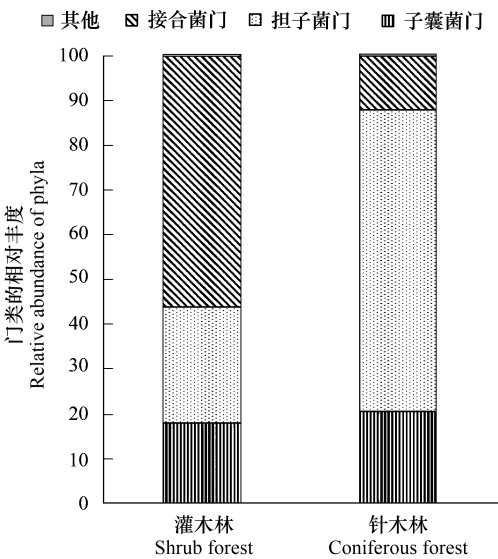


图 1 灌木林和针叶林土壤真菌群落结构组成在门水平上的比较

Fig.1 Comparison of the soil fungal community compositions in shrub and coniferous forests on level of phyla

表 3 两种林型中相对丰度大于 1% 的土壤真菌属

Table 3 The genera and species with relative abundance over 1% in two types of forest soil			
门 Phylum	属 Genus	在灌木林的相对丰度 Abundance in shrub forest	在针叶林的相对丰度 Abundance in coniferous forest
子囊菌门 Ascomycota	<i>Acicuseptoria</i> *	0.12±0.08	1.23±0.45
	<i>Hypocrea</i>	1.21±0.64	0.16±0.11
	<i>Phoma</i>	0.89±0.49	2.31±1.77
	<i>Pseudogymnoascus</i>	9.45±2.96	14.49±2.71
担子菌门 Basidiomycota	<i>Cortinarius</i> *	0	3.03±1.13
	<i>Cryptococcus</i>	23.09±8.68	27.12±6.31
	<i>Inocybe</i> **	0	2.58±0.73
	<i>Russula</i> *	0.03±0.02	4.81±1.72
	<i>Sebacina</i>	0.02±0.02	11.42±5.69
	<i>Hygrophorus</i>	0	5.49±5.43
	<i>Mortierella</i> *	35.07±8.30	10.86±4.47
接合菌门 Zygomycota	<i>Mucor</i>	6.50±4.30	0.75±0.38
	<i>Umbelopsis</i>	14.25±6.24	0.10±0.06

* 表示独立样本 T 检验的 P 值 < 0.05 , ** 表示独立样本 T 检验的 P 值 < 0.01 . 数值形式: 平均值±标准误

表 4 两种林型中相对丰度大于 1% 的土壤真菌种

Table 4 The species with relative abundance over 1% in two types of forest soil			
门 Phylum	种 Species	在灌木林的相对丰度 Abundance in shrub forest	在针叶林的相对丰度 Abundance in coniferous forest
子囊菌门 Ascomycota	<i>Acicuseptoria_rumicis</i> SH225738.06FU *	0.12±0.08	1.23±0.45
	<i>Ascomycota_sp</i> SH216928.06FU	2.01±1.00	0.06±0.03
	<i>Hypocrea_pilulifera</i> SH211682.06FU	1.19±0.62	0.04±0.02
	<i>Pseudogymnoascus_roseus</i> SH236509.06FU *	1.74±0.53	4.32±0.78
担子菌门 Basidiomycota	<i>Cryptococcus_terricola</i> SH215219.06FU	22.49±8.30	26.96±6.30
	<i>Hygrophorus_pudorinus</i> SH224115.06FU	0	5.48±5.43

续表

门 Phylum	种 Species	在灌木林的相对丰度 Abundance in shrub forest	在针叶林的相对丰度 Abundance in coniferous forest
接合菌门 Zygomycota	<i>Sebacina_sp SH226306.06FU</i> *	0	9.57±5.67
	<i>Tremellomycetes_sp SH213828.06FU</i>	1.00±0.86	0.02±0.01
	<i>Mortierella_humilis SH218044.06FU</i> *	26.15±7.43	3.75±1.60
	<i>Mortierella_sp SH212345.06FU</i>	3.00±1.46	1.78±0.87
	<i>Mortierella_sp SH216113.06FU</i> **	0	1.50±0.32
	<i>Mortierella_sp SH217217.06FU</i>	2.63±1.34	0
	<i>Mortierella_sp SH218045.06FU</i>	0.27±0.14	2.03±1.54
	<i>Mucor_hiemalis SH202366.06FU</i>	2.68±2.54	0.72±0.37
	<i>Mucor_sp_UTHSC_04_2492 SH226017.06FU</i>	3.76±3.75	0
	<i>Umbelopsis_sp SH209700.06FU</i>	12.72±5.93	0.02±0.01

* 表示独立样本 T 检验的 P 值 < 0.05 , ** 表示独立样本 T 检验的 P 值 < 0.01 . 数值形式: 平均值±标准误

2.3 影响土壤真菌群落变化的主要环境因子

通过 CCA 初步分析与真菌群落结构组成相关的环境因子,利用方差膨胀因子分析($VIF < 20$)共选入 7 个环境因子:可溶性有机碳、土壤温度、全磷、全氮、土壤 pH、植物多样性指数、土壤湿度。按照环境因子在 CCA1 轴的投影长度得知,土壤 pH、植物多样性、土壤温度和土壤湿度是影响真菌群落组成的重要环境因子(图 3)。利用 Mantel 分析(表 6),综合 R 值和 P 值可以看出,土壤 pH 对土壤真菌多样性的影响最高,植物多样性次之,土壤湿度和土壤温度对土壤真菌的类群也有明显的影响。

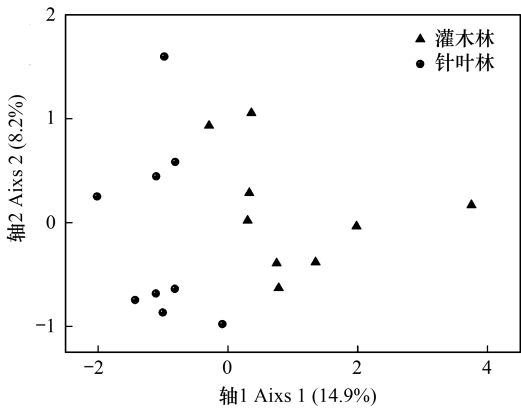


图 2 灌木林和针叶林土壤真菌群落组成除趋势对应分析

Fig.2 Detrended correspondence analysis of soil fungal community compositions in shrub and coniferous forests

表 5 灌木林和针叶林的土壤真菌群落组成的不相似性检验

Table 5 Dissimilarity test of the soil fungal community compositions between shrub and coniferous forests

距离方法 Distance methods	MRPP		Anosim		Adonis	
	δ	P	R	P	R^2	P
Bray-curtis	0.676	0.004	0.33	0.002	0.181	0.001
Manhattan	135.124	0.003	0.33	0.004	0.181	0.003

MRPP: 多响应置换过程分析, multiple response permutation procedure; Anosim, 相似性分析, analysis of similarities; Adonis, 多元方差分析, permutational multivariate analysis of variance; Delta: 该组平均距离, the group mean distance; Bray-curtis, 布雷柯蒂斯距离方法, Bray-curtis distance method; Manhattan: 曼哈顿距离方法, Manhattan distance method

表 6 土壤真菌全部 OTUs、重要真菌门与环境因子的 Mantel 分析

Table 6 Mantel test for the whole OTUs and important fungal phyla versus environmental factors

环境因子 Environmental factors	全部操作分类单元 Whole operational taxonomic units		子囊菌门 Ascomycota		担子菌门 Basidiomycota		接合菌门 Zygomycota	
	R	P	R	P	R	P	R	P
水溶性土壤有机碳 Dissolved soil organic carbon	0.141	0.126	-0.036	0.530	0.242	0.034	-0.101	0.871
全氮 Total nitrogen	-0.127	0.891	0.006	0.431	-0.102	0.824	-0.087	0.802
全磷 Total phosphorus	-0.025	0.543	0.151	0.086	-0.076	0.785	0.130	0.089

环境因子 Environmental factors	全部操作分类单元 Whole operational taxonomic units		子囊菌门 Ascomycota		担子菌门 Basidiomycota		接合菌门 Zygomycota	
	R	P	R	P	R	P	R	P
土壤 pH Soil pH	0.305	0.005	0.252	0.009	0.179	0.045	0.339	0.001
土壤湿度 Soil moisture	0.183	0.025	0.093	0.097	0.088	0.112	0.359	0.005
土壤温度 Soil temperature	0.057	0.268	-0.027	0.549	-0.047	0.647	0.324	0.003
植物香农指数 Plant Shannon index	0.186	0.021	0.128	0.050	0.070	0.183	0.369	0.002

3 讨论

通过对神农架国家公园灌木林和针叶林土壤真菌多样性的分析,发现担子菌门为针叶林土壤真菌的优势类群。有研究表明,担子菌门在土壤木质素含量较高的环境中占优势,是最主要的分解者^[31],本研究中针叶林植被多样性指数较高,土壤中木质素相对较多,是担子菌门的重要生存来源。丝膜菌属(*Cortinarius*)、丝盖伞属(*Inocybe*)、红菇属(*Russula*)和蜡壳耳属真菌(*Sebacina*)属于外生菌根真菌,且在针叶林中丰度显著高于灌木林。菌根真菌是植物菌根和真菌的共生体,在凋落物分解、养分循环和能量流动中具有重要作用^[18],其联结形成的网络系统降低了不利物种的优势地位,促进优势担子菌与针叶树植物共生^[32]。灌木林中土壤真菌的优势真菌类群为接合菌门,与 Wallenstein 等研究结果一致^[33]。被孢霉属(*Mortierella*)是土壤习居菌,往往健康植物土壤中丰度更高^[34],本研究发现该属真菌为灌木林土壤优势真菌,表明神农架国家公园灌木林土壤更健康。

植被的类型决定了凋落物数量和质量的不同^[23]。除了微生物对土壤有机质的降解和转化,植被类型的凋落物特点^[35]及其对雨水的截留能力的不同,在一定程度上影响着土壤表层有机质含量的变化。针叶林中巴山冷杉等树木的小型叶占优势^[36],凋落物积累量较低,导致针叶林对雨水的拦截能力相对较弱,土壤含水量高,土壤碳氮流失较多,与赵溪等结果一致^[35]。而灌木林中粉红杜鹃等树木的叶片宽大,单位面积凋落物积累量较高,使灌木林具有较强的雨水拦截能力,土壤含水量较低,表层的有机物流失较少,土壤中碳氮含量较高。且针叶林植被叶表面含难降解的蜡质,而灌木林的植被凋落物相对容易降解,产生有机质输入土壤,维持灌木林土壤的碳氮含量,秦嘉海也表明祁连山的灌木林土壤有机质含量比当地针叶林高^[37]。

土壤 pH 是影响真菌群落结构组成的重要环境因子,对土壤真菌的生长繁殖以及胞外酶的分泌均具有显著影响^[38]。真菌一般在酸性条件下占优势^[17-18],Nevarez 等发现真菌生长最适 pH 为 5.5^[39]。本研究调查的两个林型的土壤 pH < 5.5,为酸性环境,适宜真菌生长。本研究也发现土壤真菌多样性与 pH 值呈显著正相关,与乔沙沙等研究相同^[18]。

目前,关于植物多样性与土壤真菌群落结构之间的相关性还没有一致的定论。有研究表明,植物多样性对土壤真菌群落结构在小尺度上具有很明显的相关性,但在大尺度上相关性却很低,这可能是在大尺度上气候因子的影响掩盖了植物因子的影响^[40]。也有研究表明,植物多样性与土壤真菌多样性不相关^[41],这可能

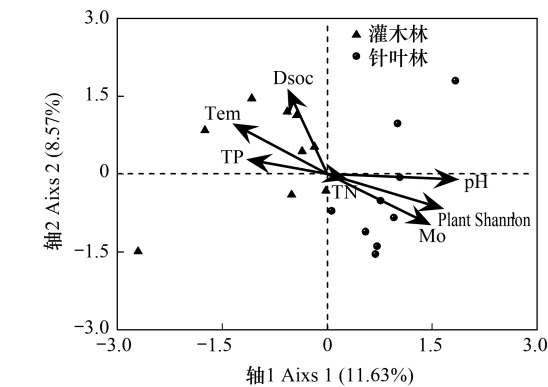


图3 灌木林和针叶林土壤真菌群落组成与环境因子间的典范对应分析

Fig.3 Canonical correspondence analysis between soil fungal community compositions and environmental factors in shrub and coniferous forests

Dsoc: 水溶性土壤有机碳, dissolved soil organic carbon; Tem: 土壤温度, soil temperature; TP: 全磷, total phosphorus; TN: 全氮, total nitrogen; pH: 土壤酸碱度; Mo: 土壤湿度, soil moisture; Plant Shannon: 植物香农指数, plant Shannon index

是功能冗余^[42]或者独特的植物物种在物质循环中有重要作用^[43]造成的。本研究中,CCA 和 Mantel 分析显示,真菌多样性与植物多样性呈显著正相关关系。覆盖土壤的不同植被类型影响土壤真菌多样性,一方面是因为不同植被类型产生不同的根际分泌物,影响土壤真菌群落的组成和分布;另一方面是植物与某些土壤真菌具有共生关系,如菌根关系,从而提高了共生菌的丰度,但抑制了其他真菌的生命活动,从而影响真菌的群落组成多样性^[18, 23]。高林线的强烈太阳辐射对幼苗生长具有严重的限制作用^[44],本研究中针叶林的乔木层胸径、株高以及灌木层株数显著高于灌木林,这可能是因为高海拔、低郁闭度的灌木林得到了较多的太阳辐射,且低温条件下的强光造成的低温光抑制作用降低了生长季的光合作用^[5],其植物生长受到更多限制,而低海拔、高盖度的针叶林则没有受到强光造成的太大影响,形成针叶林的胸径、株高和物种数目高于灌木林的结果,影响着土壤真菌多样性。

森林林线过渡带的形成一般与温度存在很大关系^[5],本研究显示温度与土壤真菌群落结构显著相关,说明温度也是控制林线处土壤真菌群落结构的重要环境因子,Ding 等也认为温度是控制林线处土壤细菌多样性的主要环境因子^[12]。林线处的郁闭林温度比其临近的高海拔林区温度更低^[8],本研究的灌木林的土壤温度显著高于较低海拔的针叶林,这可能与针叶林植株茂密程度显著高于灌木林有关,灌木林郁闭度低,白天光照产生的热量能较多存储在土壤中,而高郁闭度的针叶林一定程度上阻挡了光照,热量较难进入针叶林土壤层,昼夜温差会比灌木林小,一定程度上可以维持和稳定土壤真菌的生命活性。温度变化通常会改变微生物细胞酶的活性,影响细胞生长和分化机制,从而影响微生物多样性^[2, 19]。基于林线过渡带在全球气候变化中的重要指示作用,研究其地下微生物在气候和土壤条件变化下的响应,为人们防治冻害的防治和林线的动态预测提供了一定的理论依据。

参考文献 (References):

- [1] Gruber A, Pirkebner D, Oberhuber W, Wieser G. Spatial and seasonal variations in mobile carbohydrates in *Pinus cembra* in the timberline ecotone of the central Austrian Alps. *European Journal of Forest Research*, 2011, 130(2): 173-179.
- [2] 王襄平, 张玲, 方精云. 中国高山林线的分布高度与气候的关系. *地理学报*, 2004, 59(6): 871-879.
- [3] 邓长春, 蒋先敏, 刘洋, 张健, 陈亚梅, 和润莲. 高山林线交错带高山杜鹃的凋落物分解. *生态学报*, 2015, 35(6): 1769-1778.
- [4] 丛毓, 贺红土, 谷晓楠, 徐文茹, 刘凯, 宗盛伟, 杜海波. 高山林线形成机理研究进展. *应用生态学报*, 2016, 27(9): 3035-3041.
- [5] 沈维, 张林, 罗天祥. 高山林线变化的更新受限机制研究进展. *生态学报*, 2017, 37(9): 2858-2868.
- [6] Shiyatov S G, Terent'ev M M, Fomin V V, Zimmermann N E. Altitudinal and horizontal shifts of the upper boundaries of open and closed forests in the Polar Urals in the 20th century. *Russian Journal of Ecology*, 2007, 38(4): 223-227.
- [7] Harsch M A, Hulme P E, Mcglone M S, Duncan R P. Are treelines advancing? A global meta-analysis of treeline response to climate warming. *Ecology Letters*, 2009, 12(10): 1040-1049.
- [8] Körner C, Paulsen J. A world-wide study of high altitude treeline temperatures. *Journal of Biogeography*, 2004, 31(5): 713-732.
- [9] Kammer A, Hagedorn F, Shevchenko I, Leifeld J, Guggenberger G, Goryacheva T, Rigling A, Moiseev P. Treeline shifts in the Ural mountains affect soil organic matter dynamics. *Global Change Biology*, 2009, 15(6): 1570-1583.
- [10] Hughes N M, Johnson D M, Akhalkatsi M, Abdaladze O. Characterizing *Betula litwinowii* seedling microsites at the alpine-treeline ecotone, central greater Caucasus mountains, Georgia. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 2009, 41(1): 112-118.
- [11] Withington C L, Sanford R L Jr. Decomposition rates of buried substrates increase with altitude in the forest-alpine tundra ecotone. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(1): 68-75.
- [12] Ding J J, Zhang Y G, Deng Y, Cong J, Lu H, Sun X, Yang C Y, Yuan T, van Nostrand J D, Li D Q, Zhou J Z, Yang Y F. Integrated metagenomics and network analysis of soil microbial community of the forest timberline. *Scientific Reports*, 2015, 5: 7994.
- [13] Tedersoo L, Bahram M, Põlme S, Kõljalg U, Yorou N S, Wijesundera R, Ruiz L V, Vasco-Palacios A M, Thu P Q, Suija A, Smith M E, Sharp C, Saluveer E, Saitta A, Rosas M, Riit T, Ratkowsky D, Pritsch K, Põldmaa K, Piepenbring M, Phosri C, Peterson M, Parts K, Pärtel K, Otsing E, Nouhra E, Njouonkou A L, Nilsson R H, Morgado L N, Mayor J, May T W, Majuakim L, Lodge D J, Lee S S, Larsson K H, Kohout P, Hosaka K, Hiiesalu I, Henkel T W, Harend H, Guo L D, Greslebin A, Grelet G, Geml J, Gates G, Dunstan W, Dunk C, Drenkhan R, Dearnaley J, De Kesel A, Dang T, Chen X, Buegger F, Brearley F Q, Bonito G, Anslan S, Abell S, Abarenkov K. Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, 2014, 346(6213): 1256688.
- [14] 韩世忠, 高人, 马红亮, 尹云锋, 司友涛, 杨玉盛, 陈仕东, 陆建芳, 刘功辉, 李爱萍, 郑群瑞. 中亚热带森林土壤真菌多样性的案例研究. *热带亚热带植物学报*, 2015, 23(3): 343-352.
- [15] 曹云, 沈文静, 陈炼, 胡飞龙, 周蕾, 徐海根. Metabarcoding 技术在真菌多样性研究中的应用. *生物多样性*, 2016, 24(8): 932-939.

- [16] Hawksworth D L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, 1991, 95(6): 641-655.
- [17] 孙英杰, 何成新, 徐广平, 莫凌, 顾大彤, 姚月锋, 黄玉清. 广西十万大山地区不同植被类型土壤微生物特征. *生态学杂志*, 2015, 34(2): 352-359.
- [18] 乔沙沙, 周永娜, 柴宝峰, 贾彤, 李鑫. 关帝山森林土壤真菌群落结构与遗传多样性特征. *环境科学*, 2017, 38(6): 2502-2512.
- [19] Zhou J Z, Deng Y, Shen L N, Wen C Q, Yan Q Y, Ning D L, Qin Y J, Xue K, Wu L Y, He Z L, Voordeckers J W, van Nostrand J D, Buzzard V, Michaletz S T, Enquist B J, Weiser M D, Kaspari M, Waide R, Yang Y F, Brown J H. Temperature mediates continental-scale diversity of microbes in forest soils. *Nature Communications*, 2016, 7: 12083.
- [20] Bao Z H, Matsushita Y, Morimoto S, Hoshino Y T, Suzuki C, Nagaoka K, Takenaka M, Murakami H, Kuroyanagi Y, Urashima Y, Sekiguchi H, Kushida A, Toyota K, Saito M, Tsushima S. Decrease in fungal biodiversity along an available phosphorous gradient in arable Andosol soils in Japan. *Canadian Journal of Microbiology*, 2013, 59(6): 368-373.
- [21] 秦红, 李昌晓, 任庆水. 不同土地利用方式对三峡库区消落带土壤细菌和真菌多样性的影响. *生态学报*, 2017, 37(10): 3494-3504.
- [22] Penton C R, Stlouis D, Cole J R, Luo Y Q, Wu L Y, Schuur E A G, Zhou J Z, Tiedje J M. Fungal diversity in permafrost and tallgrass prairie soils under experimental warming conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(22): 7063-7072.
- [23] 韩世忠, 高人, 马红亮, 尹云锋, 李爱萍, 蔡献贺, 程清平, 郑群瑞. 建瓯万木林自然保护区两种森林类型土壤真菌多样性. *生态学杂志*, 2015, 34(9): 2613-2620.
- [24] 丛静. 神农架自然保护区土壤微生物多样性研究. 长沙: 中南大学, 2013.
- [25] Zhang Y G, Cong J, Lu H, Li G L, Xue Y D, Deng Y, Li H, Zhou J Z, Li D Q. Soil bacterial diversity patterns and drivers along an elevational gradient on Shennongjia Mountain, China. *Microbial Biotechnology*, 2015, 8(4): 739-746.
- [26] Ma C M, Zhu C, Zheng C G, Wu C L, Guan Y, Zhao Z P, Huang L Y, Huang R. High-resolution geochemistry records of climate changes since late-glacial from Dajiuhe peat in Shennongjia Mountains, Central China. *Science Bulletin*, 2008, 53(S1): 28-41.
- [27] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [28] Zhao M X, Sun B, Wu L W, Gao Q, Wang F, Wen C Q, Wang M M, Liang Y T, Hale L, Zhou J Z, Yang Y F. Zonal Soil type determines soil microbial responses to maize cropping and fertilization. *MSystems™*, 2016, 1(4): e00075-16.
- [29] Magoc̆ T, Salzberg S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [30] Edgar R C, Haas B J, Clemente J C, Quince C, Knight R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, 2011, 27(16): 2194-2200.
- [31] de Araujo A S F, Bezerra W M, Santos V M, Nunes L A, de Lyra M, do Vale Barreto Figueiredo M, Melo V M. Fungal diversity in soils across a gradient of preserved Brazilian Cerrado. *Journal of Microbiology*, 2017, 55(4): 273-279.
- [32] 周晶. 大青山外生菌根真菌资源调查及菌根生态研究. 呼和浩特: 内蒙古师范大学, 2005.
- [33] Wallenstein M D, McMahon S, Schimel J. Bacterial and fungal community structure in Arctic tundra tussock and shrub soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 59(2): 428-435.
- [34] 吴照祥, 郝志鹏, 陈永亮, 曾燕, 郭兰萍, 黄璐琦, 王勇, 陈保冬. 三七根腐病株根际土壤真菌群落组成与碳源利用特征研究. *菌物学报*, 2015, 34(1): 65-74.
- [35] 赵溪, 李君剑, 李洪建. 关帝山不同植被恢复类型对土壤碳、氮含量及微生物数量的影响. *生态学杂志*, 2010, 29(11): 2102-2110.
- [36] 于倩, 谢宗强, 熊高明, 陈志刚, 杨敬元. 神农架巴山冷杉(*Abies fargesii*)林群落特征及其优势种群结构. *生态学报*, 2008, 28(5): 1931-1941.
- [37] 秦嘉海, 金自学, 王进, 刘金荣, 谢晓蓉. 祁连山不同林地类型对土壤理化性质和水源涵养功能的影响. *水土保持学报*, 2007, 21(1): 92-94.
- [38] 韩世忠, 高人, 李爱萍, 马红亮, 尹云锋, 司友涛, 陈仕东, 郑群瑞. 中亚热带地区两种森林植被类型土壤微生物群落结构. *应用生态学报*, 2015, 26(7): 2151-2158.
- [39] Nevarez L, Vasseur V, Le Madec A, Le Bras M A, Coroller L, Leguérinel I, Barbier G. Physiological traits of *Penicillium glabrum* strain LCP 08. 5568, a filamentous fungus isolated from bottled aromatised mineral water. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 130(3): 166-171.
- [40] Yang T, Adams J M, Shi Y, He J S, Jing X, Chen L T, Tedersoo L, Chu H Y. Soil fungal diversity in natural grasslands of the Tibetan Plateau: associations with plant diversity and productivity. *New Phytologist*, 2017, 215(2): 756-765.
- [41] McGuire K L, Fierer N, Bateman C, Treseder K K, Turner B L. Fungal community composition in neotropical rain forests: the influence of tree diversity and precipitation. *Microbial Ecology*, 2012, 63(4): 804-812.
- [42] 贺纪正, 李晶, 郑袁明. 土壤生态系统微生物多样性-稳定性关系的思考. *生物多样性*, 2013, 21(4): 411-420.
- [43] Ladygina N, Hedlund K. Plant species influence microbial diversity and carbon allocation in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(2): 162-168.
- [44] Bader M Y, van Geloof I, Rietkerk M. High solar radiation hinders tree regeneration above the alpine treeline in northern Ecuador. *Plant Ecology*, 2007, 191(1): 33-45.