

DOI: 10.5846/stxb201807061475

林艳, 何跃军, 何敏红, 吴春玉, 方正圆, 韩 勛, 徐鑫洋, 王世雄. 喀斯特植被演替过程土壤丛枝菌根真菌 (AMF) 多样性研究. 生态学报, 2019, 39 (11): - .

Lin Y, He Y J, He M H, Wu C Y, Fang Z Y, Han X, Xu X Y, Wang S X. Species diversity of soil arbuscular mycorrhizal fungi in karst vegetation succession process. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(11): - .

喀斯特植被演替过程土壤丛枝菌根真菌 (AMF) 多样性研究

林 艳, 何跃军*, 何敏红, 吴春玉, 方正圆, 韩 勛, 徐鑫洋, 王世雄

贵州大学林学院, 贵阳 550025

摘要:喀斯特生态系统维持了丰富的微生物多样性, 丛枝菌根真菌 (Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) 结构和组成会随喀斯特植被演替而改变。以贵州贵阳花溪、毕节织金和关岭花江典型喀斯特区域按时空替代法采集了乔木林、灌木林和草本群落样地土壤, 采用 Illumina HiSeq 分子测序技术, 通过 OTU 聚类分析、物种注释及数据库比对, 探索了喀斯特不同演替阶段土壤 AMF 物种多样性。结果表明: (1) 喀斯特生境土壤获得球囊菌门 Glomeromycota OTU 为 275 个, 分属于 4 目 8 科 13 属 19 种, 属水平上 AMF 丰度表明根内根孢囊霉属 *Rhizophagus* 为优势属, 花江拥有最高 AMF 丰富度, 缩隔球囊霉 *Septoglomus constrictum*、根内根孢囊霉 *Rhizophagus intraradices*、*Claroideoglomus* sp. MIB8381 和稀有内养囊霉 *Entrophospora infrequens* 均分布于各样地的不同植被演替阶段, 为常见种。 (2) AM 真菌多样性 Shannon 指数与 Simpson 指数在不同演替阶段表现为花溪: 乔木 $\approx$ 灌木 $>$ 草本 ($P < 0.05$)、花江: 灌木 $\approx$ 草本 $>$ 乔木 ($P < 0.05$)、织金: 乔木 $>$ 灌木 $>$ 草本, 但差异不显著, Chao1 和 Abundance-based coverage estimator (ACE) 指数表现为花江灌木 $\approx$ 草地 $>$ 乔木 ($P < 0.05$)。 (3) Spearman 相关性分析表明土壤全磷与 AMF ACE 指数显著负相关, 且与 Chao1 指数极显著负相关; 速效磷与 Shannon 和 Simpson 指数显著负相关。 (4) 典范对应分析 (Canonical Correlation Analysis, CCA) 表明土壤全氮、速效氮、有机质、全磷和速效钾与 AMF 群落分布有显著相关性。结果表明喀斯特植被演替过程中土壤丛枝菌根真菌多样性随着演替进行或升高或降低, 无一致变化规律, 并与土壤理化性质关系密切, 其中以磷的影响最大。

关键词:喀斯特; 植被演替; 丛枝菌根真菌; 多样性

Species diversity of soil arbuscular mycorrhizal fungi in karst vegetation succession process

LIN Yan, HE Yuejun*, HE Minhong, WU Chunyu, FANG Zhengyuan, HAN Xu, XU Xinyang, WANG Shixiong

College of Forestry in Guizhou University, Guiyang 550025, China

Abstract: The karst ecosystem maintains rich microbial diversity, and the composition and structure of arbuscular mycorrhizal fungi changes with karst vegetation succession. In this experiment, we used a space-time substitution method to collect soil from tree, bush, and herb communities from Huaxi Guiyang, Zhijin Bijie, and Huajiang Guanling from a typical karst area located in Guizhou. Using Illumina HiSeq molecular sequencing technology, we performed an operation taxonomic unit (OTU) clustering analysis and compared the annotated species with those in a database to explore the soil arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species diversity during the different karst succession stages. There were 275 Glomeromycota OTUs in 19 species from 4 orders, 8 families, and 13 genera in the karst habitat soil. AMF abundance at the genus level

基金项目:国家自然科学基金 (No 31660156, 31360106); 贵州省农业攻关项目 (黔科合 NY[2014]3029 号); 贵州省科技计划项目 (黔科合[2016]2805 号); 贵州省科技计划项目 (黔科合平台人才[2017]5788 号), 贵州省优秀青年科技人才专项基金 (黔科合人字 2013(10)); 贵州省生态学重点学科建设项目 (黔学位合字 ZDXK[2016]7 号)

收稿日期: 2018-07-06; 网络出版日期: 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: hyj1358@ 163.com

showed that *Rhizophagus* was the dominant genus, and Huajiang had the highest AMF richness. The common species *Septoglomus constrictum*, *Rhizophagus intraradices*, *Claroideoglossum* sp. MIB8381, and *Entrophospora infrequens* were distributed at different stages of the vegetation succession at every sampling site. The Shannon and Simpson's indices of AMF changed at the different stages of succession as follows: in Huaxi, tree/bush > herb ($P < 0.05$); in Huajiang, bush/herb > tree ($P < 0.05$); and in Zhijin, tree > bush > herb, but these relationships were not significantly different. The Chao1 and abundance-based coverage estimation (ACE) indices showed that in Huajiang, bush/herb > tree ($P < 0.05$). The Spearman correlation analysis showed that soil total phosphorus was significantly and negatively correlated with the ACE index of AMF, and it was negatively correlated with the Chao1 index. Available phosphorus was negatively correlated with the Shannon and Simpson's indices. The canonical correlation analysis showed that soil total nitrogen, available nitrogen, organic matter, total phosphorus, and available potassium were significantly correlated with the community distribution of AMF. The results showed that although there was no uniform variation law, the diversity of soil AMF increased or decreased with the process of karst vegetation succession, which was closely related to the physicochemical properties of the soil, and the influence of phosphorus was the greatest.

Key Words: karst; vegetation succession; arbuscular mycorrhizal fungi; diversity

丛枝菌根真菌 (Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) 是一类能与绝大部分植物根系形成共生体, 广泛分布于自然界中, 并对植物的生长及发育有着极其重要作用的菌根真菌^[1-2]。AMF 多样性影响着不同生态系统的植物群落结构、多样性和生产力, 并在生态系统的植被演替及恢复过程中扮演着重要角色^[3-4]。

中国西南喀斯特溶岩地区是世界三大溶岩区之一, 且是连片裸露碳酸盐岩面积最大的片区, 由于其特殊而复杂的土壤侵蚀过程导致该地区水土流失并形成石漠化, 严重阻碍了区域生态平衡^[5-6], 石漠化治理成为维护区域社会经济与生态环境的可持续发展的一项重要内容^[7]。喀斯特植被恢复受微生物群落结构的影响, 有研究者认为 AMF 可能成为喀斯特石漠化治理中采用菌根生物技术应用的重要选择, 其前提是要筛选出适合于该区域的 AMF 菌种^[8]。虽然已有研究学者对喀斯特地区 AMF 的研究开展了一些前期工作, 如 AMF 对喀斯特生境植物光合生理的作用^[9]、氮磷营养吸收^[10]及对寄主植物抗旱性的影响^[11-12]等方面, 也有少数作者进行喀斯特生境下的 AMF 形态鉴定的多样性分析^[13]或遗传多样性分析^[14-16]。充分了解喀斯特生境中的 AMF 多样性及分布状况, 有助于将 AMF 运用于石漠化治理^[17], 有学者曾研究草原生态系统及退化生态系统中的 AMF 多样性, 表明 AMF 多样性会随着植被演替的进程而发生动态的变化^[18-20], 而喀斯特植被自然演替过程中 AMF 多样性变化的研究仍然不够深入, 喀斯特生境中不同植被自然演替阶段的土壤 AMF 多样性概况如何? 因此, 本研究旨在通过高通量测序的方法, 探究喀斯特不同植被自然演替过程中土壤 AMF 种质资源多样性, 为 AMF 在喀斯特石漠化生态恢复过程中采用菌根生物技术提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验设计与土样采集

本研究选取了 3 个典型喀斯特自然演替区域作为研究对象, 其中, 贵州贵阳市花溪区 (简称花溪, 106°27'—106°52'E, 26°11'—26°34'N), 为高原季风湿润气候; 关岭县花江板贵乡 (简称花江, 105°36'30"—105°46'30"E, 25°39'13"—25°41'00"N), 属亚热带季风气候; 毕节市织金县珠藏镇 (简称织金, 105°44'42"—106°11'38"E, 26°38'31"—26°52'35"N), 属亚热带季风气候。在每个研究区根据植被类型的分布概况, 以空间替代时间方法按植被演替方向选择草本、灌木及乔木 3 种不同植被类型覆盖的地段进行样地设置, 共 9 个样地 (每一样地 3 个重复)。按乔木 10m×10m、灌木 5m×10m、草本 2m×2m 的样方面积进行群落学调查, 并按样方对角线五点取样法进行土壤样品采集。采样时挖取土壤剖面, 每取样点按 5cm、10cm 和 15cm 分层取样, 将各层土壤等量充分混匀装入保鲜袋, 分为两份, 一份用于理化性质测定, 一份带回实验室置于 -80℃ 超低温

冰箱中保存,送至北京诺禾致源测序公司检测。研究样地其他信息概况如表 1。

表 1 样地概况
Table 1 General situation of sample plots

采样点 Sample site		海拔 Elevation/m	岩石裸露度 Rock exposed degree/%	植被覆盖率 Vegetation coverage/%	年均温 Average annual temperature/℃	年均降雨量 Average annual rainfall/mL	主要植物 Main plants
HX	T	1165	<5	100	15.3	1129.5	香樟 <i>Cinnamomum camphora</i> 、 青冈栎 <i>Cyclobalanopsis glauca</i>
	B	1263	20—30	70—80	15.6	1130	鼠刺 <i>Itea chinensis</i> 、 火棘 <i>Pyracantha fortuneana</i>
	H	1106	<5	80—90	15.9	1200	五节芒 <i>Miscanthus floridulus</i> 、 白茅 <i>Imperata cylindrica</i>
HJ	T	951	20	90	16.2	1200.2	臭椿 <i>Ailanthus altissima</i> 、 山桐子 <i>Idesia polycarpa</i>
	B	844	20—30	70—80	16.8	1200	乌柏 <i>Sapium sebiferum</i> 、 地瓜藤 <i>Caulis Fici Tikouae</i>
	H	957	70—80	40—50	16.5	1210	荩草 <i>Arthraxon hispidus</i> 、 艾蒿 <i>Artemisia argyi</i>
ZJ	T	1564	<57	100	14.1	1430	光皮桦 <i>Betula luminifera</i> 、 杉木 <i>Cunninghamia lanceolata</i>
	B	1437	<5	100	14.3	1400	鼠刺 <i>Itea chinensis</i> 、 铁芒萁 <i>Dicranopteris dichotoma</i>
	H	1437	20—30	20	14.8	1450	白酒草 <i>Conyza japonica</i> 、 荩草 <i>Arthraxon hispidus</i>

HX:花溪,HuaXi;HJ:花江,HuaJiang;ZJ:织金,ZhiJing;T:乔木演替阶段,Tree;B:灌木演替阶段,Bush;H:草本演替阶段,Herb

1.2 AMF Illumina HiSeq 测序

1.2.1 土样基因组 DNA 提取和 PCR 扩增

采用 SDS 方法对样本基因组 DNA 进行提取,利用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度,取适量的样品于离心管中,使用无菌水稀释样品至 1ng/μL。以稀释后的基因组 DNA 为模板,根据测序区域的选择,使用带 Barcode 的特异引物,New England Biolabs 公司的 Phusion® High—Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer,和高效高保真酶进行 PCR。引物参照 Beenhouwer(2015)^[21]、Dai(2014)^[22]、Geel(2015)^[23]、Liang(2015)^[24]、Xiang(2015)等^[25]人提出的土壤 AMF 特异性引物,序列为:AMV4.5NF(F)—AAGCTCGTAGTTGAATTTTCG、AMDGR(R)—CCCAACTATCCCTATTAATCAT,由诺禾致源公司合成。PCR 产物使用 2%浓度的琼脂糖凝胶进行电泳检测;根据 PCR 产物浓度进行等量混样,充分混匀后使用 2%的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,对目的条带使用 qiagen 公司提供的胶回收试剂盒回收产物。

1.2.2 文库构建和上机测序

使用 TruSeq® DNA PCR—Free Sample Preparation Kit 建库试剂盒进行文库构建,构建好的文库经过 Qubit 和 Q—PCR 定量,文库合格后,使用 HiSeq2500 PE250 进行上机测序。

1.2.3 测序数据处理

根据 Barcode 序列和 PCR 扩增引物序列从下机数据中拆分出各样品数据,截去 Barcode 和引物序列后使用 FLASH^[26]对每个样品的序列进行拼接,将得到的拼接序列经过严格过滤处理^[27]得到高质量 Tags 数据,参照 Qiime(Version 1.7.0)^[28]的 Tags 质量控制流程。将经过以上处理后得到的 Tags 序列通过 UCHIME Algorithm^[29]与 Unite database 数据库进行比对检测嵌合体序列,去除其中的嵌合体序列^[30],获得最终有效数据。

1.2.4 OTU 聚类 and 物种注释

利用 Uparse 软件(Uparse v7.0.1001)^[31]对所有样品的全部有效数据进行聚类,默认以 97%的一致性将序

列聚类成为 OTU (Operational Taxonomic Units), 依据其算法原则, 筛选 OTU 中出现频数最高的序列作为 OTU 的代表序列。对 OTU 代表序列进行物种注释, 用 Qiime 软件 (Version 1.7.0) 中的 blast 方法^[32] 与 Unit 数据库^[33] 进行物种注释分析, 并分别在各个分类水平: phylum (门)、class (纲)、order (目)、family (科)、genus (属)、species (种) 统计各样本的 AMF 群落组成。使用 MUSCLE^[34] 软件进行快速多序列比对, 得到所有 OTU 代表序列的系统发生关系。

1.3 土壤理化性质测定

采用常规方法测定土壤理化性质^[35], 其中, 土壤 pH 值酸度计法; 速效钾采用火焰分光光度法; 有效磷采用钼锑抗比色法; 全磷采用钼锑抗比色法; 全氮和水解氮均用半微量开氏法; 有机质用油浴加热重铬酸钾氧化法测定 (表 2)。

表 2 样地理化性质

Table 2 Physical and chemical properties of sample site

采样点 Sample site		有机质 Organic matter/ (g/kg)	pH	速效磷 Available phosphorus/ (mg/kg)	水解氮 Hydrolysis nitrogen/ (mg/kg)	速效钾 Available kalium/ (mg/kg)	全氮 Total nitrogen/ (g/kg)	全磷 Total phosphorus/ (g/kg)
HX	T	10.08±1.06a	7.57±0.06a	0.47±0.03a	0.45±0.04b	17.97±3.26b	0.12±0.01ab	0.18±0.02b
	B	11.70±3.89a	7.67±0.03a	0.51±0.06a	0.58±0.06a	27.01±2.39a	0.16±0.03a	0.21±0.02ab
	H	13.36±0.15a	7.58±0.06a	0.52±0.02a	0.46±0.12ab	25.16±4.39a	0.11±0.01b	0.23±0.02a
HJ	T	9.84±0.77b	7.68±0.04a	0.57±0.04a	0.58±0.04a	28.67±3.09a	0.15±0.01a	0.50±0.06a
	B	11.52±0.88ab	7.76±0.02a	0.48±0.01b	0.24±0.02c	27.72±2.81a	0.22±0.13a	0.18±0.01b
	H	11.54±0.92a	7.49±0.05b	0.35±0.01c	0.32±0.05b	8.86±0.37b	0.07±0.01b	0.18±0.01b
ZJ	T	10.04±1.04b	5.44±0.10b	0.26±0.07b	0.26±0.03b	14.65±3.03a	0.09±0.02b	0.39±0.01a
	B	10.06±0.42b	5.96±0.01b	0.28±0.05b	0.34±0.02a	6.89±0.41b	0.09±0.01b	0.16±0.01b
	H	12.32±0.65a	7.53±0.05a	0.44±0.02a	0.19±0.05b	5.35±0.23b	0.47±0.10a	0.18±0.02b

不同字母表示在 5% 的显著性水平下有差异 ($P < 0.05$), a, b, c 表示同一研究区不同演替阶段间土壤理化性质的差异

1.4 统计分析

使用 Qiime 软件 (Version 1.7.0) 计算 AMF 多样性指数; 运用 SPSS18.0 单因素方差分析比较乔、灌、草阶段之间多样性指数间的差异, Spearman 相关性分析描述 AMF 多样性指数与土壤理化性质的相关性; 采用 Oringin8.0 绘制柱状堆积图反映 AM 真菌丰度; 运用 R 软件进行主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA) 反映不同演替阶段的 AMF 群落组成差异, 典范对应分析 (Canonical Correlation Analysis, CCA) 反映土壤理化性质对 AMF 群落组成的影响。

2 结果与分析

2.1 采样点土壤 AMF 分类

27 个土壤样本共得到 3871 个 OTU, 其中属于 AMF 的 OTU 为 275 个。Silva 数据库进行比对共得到 4 目, 其中球囊霉目 Glomerales 的 OTU 为 249, 多样孢囊霉目 Diversisporales 的 OTU 为 14 个, 原囊霉目 Archaeosporales 的 OTU 为 10 个, 类球囊霉目 Paraglomerales 的 OTU 为 2 个。从 4 个目中共得到 8 科, 13 属及 19 个分子 AMF 分子种。其中斗管囊霉属 *Funneliformis* 1 种、根孢囊霉属 *Rhizophagus* 1 种、硬囊霉属 *Sclerocystis* 1 种、隔球囊霉属 *Septoglomus* 1 种、近明球囊霉属 *Claroideoglomus* 3 种、巨孢囊霉属 *Gigaspora* 1 种、盾巨孢囊霉属 *Scutellospora* 1 种、无梗囊霉属 *Acaulospora* 2 种、多样孢囊霉属 *Diversispora* 3 种、类球囊霉属 *Paraglomus* 2 种、双型囊霉属 *Ambispora* 1 种、原囊霉属 *Archaeospora* 1 种、内养囊霉属 *Entrophospora* 1 种^[36] (表 3)。

表 3 AMF 分子种分类情况
Table 3 Classification of AMF molecular species

目 Orders	科 Families	属 Genera	种 Species
球囊霉目 Glomerales	球囊霉科 Glomeraceae	斗管囊霉属 <i>Funneliformis</i>	摩西斗管囊霉 <i>Funneliformis mosseae</i>
		根孢囊霉属 <i>Rhizophagus</i>	根内根孢囊霉 <i>Rhizophagus intraradices</i>
		硬囊霉属 <i>Sclerocystis</i>	<i>Sclerocystis</i> sp.1
		隔球囊霉属 <i>Septoglomus</i>	缩隔球囊霉 <i>Septoglomus constrictum</i>
	近明球囊霉科 Claroideoglomeraceae	近明球囊霉属 <i>Claroideoglomus</i>	<i>Claroideoglomus</i> sp.MIB8381
			<i>Claroideoglomus</i> sp.NBR_PP1 <i>Claroideoglomus</i> sp.W3234
多样孢囊霉目 Diversisporales	巨孢囊霉科 Gigasporaceae	巨孢囊霉属 <i>Gigaspora</i>	球状巨孢囊霉 <i>Gigaspora margarita</i>
		盾巨孢囊霉属 <i>Scutellospora</i>	双紫盾巨孢囊霉 <i>Scutellospora dipurpurens</i>
	无梗囊霉科 Acaulosporaceae	无梗囊霉属 <i>Acaulospora</i>	巴西无梗囊霉 <i>Acaulospora brasiliensis</i>
			稍长无梗囊霉 <i>Acaulospora longula</i>
	多样孢囊霉科 Diversisporaceae	多样孢囊霉属 <i>Diversispora</i>	<i>Diversispora</i> sp.w2423
			<i>Diversispora</i> sp.w4568 隐多样孢囊霉 <i>Diversispora celata</i>
类球囊霉目 Paraglomerales	类球囊霉科 Paraglomeraceae	类球囊霉属 <i>Paraglomus</i>	巴西类球囊霉 <i>Paraglomus brasilianum</i>
			隐类球囊霉 <i>Paraglomus occultum</i>
原囊霉目 Archaeosporales	双型囊霉科 Ambisporaceae	双型囊霉属 <i>Ambispora</i>	芬兰双型囊霉 <i>Ambispora fennica</i>
	原囊霉科 Archaeosporaceae	原囊霉属 <i>Archaeospora</i>	<i>Archaeospora</i> sp.MIB8442
		内养囊霉属 <i>Entrophospora</i>	稀有内养囊霉 <i>Entrophospora infrequens</i>

2.2 不同植被演替阶段 AMF 属与种水平 OTU 丰度及分布

花溪、花江、织金属水平上 AMF 丰度分别为:乔木>灌木>草地、灌木>乔木>草地、草地>灌木>乔木,总体 AMF 丰度为花江>花溪>织金,且花江各样地 AMF 丰度均高于其余各样地丰度。各样地优势属及次优势属均为根孢囊霉属和斗管囊霉属,花溪灌木第三优势属为硬囊霉属,花江灌木和草本第三优势属为隔球囊霉属,其余样地第三优势属均为近明球囊霉属(图 1)。

摩西斗管囊霉和 *Sclerocystis* sp.1 仅在花溪乔木、灌木、草地演替阶段分布,可见是花溪特有种。缩隔球囊霉、根内根孢囊霉、*Claroideoglomus* sp.MIB8381 和稀有内养囊霉在各个样地均有分布,可见是喀斯特地区的常见种。稍长无梗囊霉丰度在各种中最小,且仅在织金乔木及花江灌木演替阶段分布。花溪、织金种水平上 AMF 丰度均为乔木>灌木>草地、而花江为乔木>草地>灌木。总体种丰度趋势为:花江>花溪>织金(表 4)。

表 4 各样地 AMF 分子种 OTU 丰度及分布
Table 4 The abundance and molecular species of AMF OTU in sample site

AMF 分子种 Molecular species of AMF	HJ			ZJ			HX			合计 Total
	T	B	H	T	B	H	T	B	H	
摩西斗管囊霉 <i>Funneliformis mosseae</i>							30	42	16	88
根内根孢囊霉 <i>Rhizophagus intraradices</i>	344	35	70	3	210	25	586	63	101	1437
<i>Sclerocystis</i> sp.1							146	28	338	512
缩隔球囊霉 <i>Septoglomus constrictum</i>	616	392	815	2	42	18	212	24	21	2142
<i>Claroideoglomus</i> sp.MIB8381	666	25	1	61	3	2	61	310	13	1142
<i>Claroideoglomus</i> sp.NBR_PP1			8	1	1		59	1	5	75
<i>Claroideoglomus</i> sp.W3234	25	8		7	3	1	62	103	17	226
稀有内养囊霉 <i>Entrophospora infrequens</i>	505	11	85	17	1	32	140	3	6	800

续表

AMF 分子种 Molecular species of AMF	HJ			ZJ			HX			合计 Total
	T	B	H	T	B	H	T	B	H	
球状巨孢囊霉 <i>Gigaspora margarita</i>		9			14		3			26
双紫盾巨孢囊霉 <i>Scutellospora dipurpurens</i>		3		11		5	23	6	3	51
巴西无梗囊霉 <i>Acaulospora brasiliensis</i>		2		25						27
稍长无梗囊霉 <i>Acaulospora longula</i>		1		1						2
<i>Diversispora</i> sp.w2423	178	13		16		4	35			246
<i>Diversispora</i> sp.w4568		9	3	18	7	6	1	7	2	53
隐多样孢囊霉 <i>Diversispora celata</i>	10						89	13	11	123
巴西类球囊霉 <i>Paraglomus brasilianum</i>		15		119		7				141
隐类球囊霉 <i>Paraglomus occultum</i>				2	4					6
芬兰双型囊霉 <i>Ambispora fennica</i>		10		57		6				73
<i>Archaeospora</i> sp.MIB8442		15		120		80				215
合计 Total	2344	548	982	460	285	186	1447	600	533	

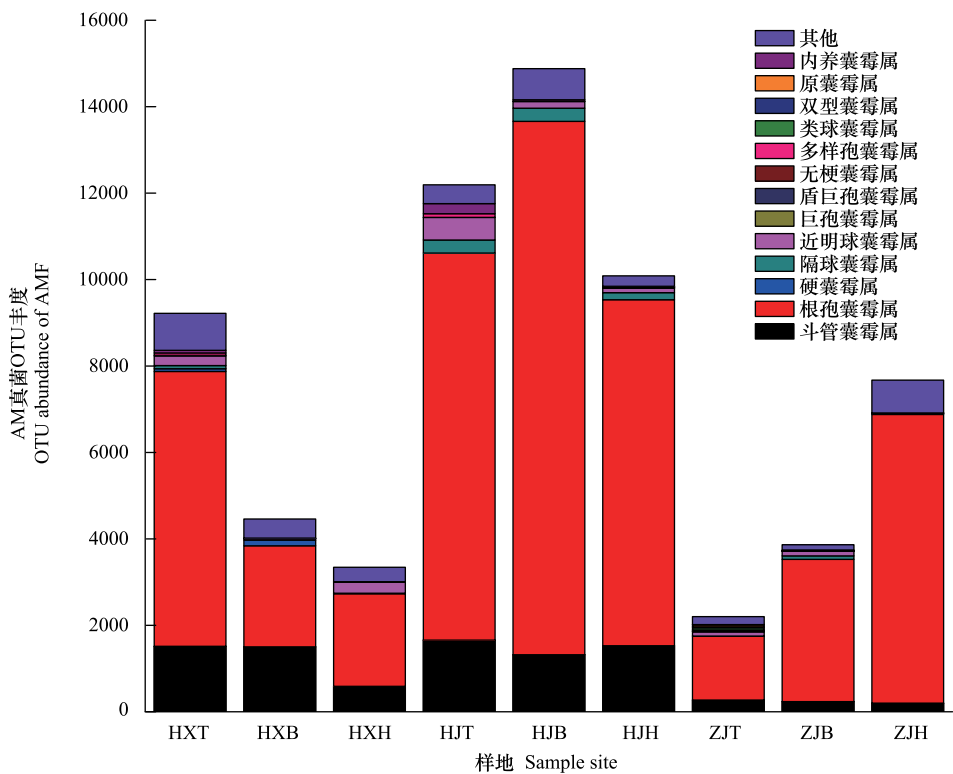


图1 AMF 属水平 OTU 丰度

Fig.1 The OTU abundance of AMF at the genus level

AM: 丛枝菌根, arbuscular mycorrhizal; OTU: 操作分类单元, operational taxonomic units; HXT: 花溪乔木演替阶段, HuaXi Tree; HXB: 花溪灌木演替阶段, HuaXi Bush; HXH: 花溪草本演替阶段, HuaXi Herb; HJT: 花江乔木演替阶段, HuaJiang Tree; HJB: 花江灌木演替阶段, HuaJiang Bush; HJH: 花江草本演替阶段, HuaJiang Herb; ZJT: 织金乔木演替阶段, ZhiJin Tree; ZJB: 织金灌木演替阶段, ZhiJin Bush; ZJH: 织金草本演替阶段, ZhiJin Herb

2.3 不同植被演替阶段土壤 AMF 的 OTU 多样性变化

所有采样点测序文库的覆盖度均达到 90% 以上,说明绝大部分 AMF 序列可以被测出,测序结果具有较好的代表性,各样地 AMF 多样性指数均较高。在同一研究区不同演替阶段,香农与辛普森指数变化趋势基本一致,即在花溪和织金样点:乔木 $\approx$ 灌木 $>$ 草地,且花溪乔木和灌木与草地之间差异显著($P<0.05$),织金乔木与草地间差异显著($P<0.05$),说明花溪乔木和灌木 AMF 物种多样性和常见种优势度高于草地,织金乔木 AMF 物种多样性和常见种优势度高于草地;在花江样点则为:草地 $>$ 灌木 $>$ 乔木,但是差异不显著。花江乔、灌、草样地的 AMF 香农指数均大于花溪和织金草地的指数,且差异显著($P<0.05$),说明花江 AMF 物种多样性大于花溪和织金草地演替阶段。Chao1 和 ACE 指数基本呈现一致的变化趋势:花溪采样点 AMF 群落丰度为乔木 $>$ 灌木 $>$ 草地,织金采样点 AMF 群落丰度为灌木 $>$ 乔木 $>$ 草地,且差异均不显著;而花江采样点则为灌木 $\approx$ 草地 $>$ 乔木,且差异显著($P<0.05$)。花江灌木和乔木演替阶段分别拥有各样地最高和最低的 Chao1 和 ACE 指数(表 5)。

在同一演替阶段不同研究区,乔木演替阶段的 AMF 香农与辛普森指数变化趋势为花溪 $\approx$ 织金 $>$ 花江;草本演替阶段为花江 $>$ 花溪 $\approx$ 织金($P<0.05$);灌木演替阶段基本一致。乔木演替阶段 AMF Chao1 和 ACE 指数为花溪 $>$ 花江 $\approx$ 织金($P<0.05$),灌木和草本演替阶段均为花江 $>$ 花溪 $\approx$ 织金,Chao1 指数差异显著($P<0.05$),ACE 指数差异不显著(表 5)。

表 5 不同演替阶段 AMF 的 OTU 丰度与多样性指数

Table 5 AM fungal OTU richness and diversity index in different stage of succession

采样点 Sample site		97% 相似水平 Similarity of 97%				
		香农指数 Simpson index	辛普森指数 Simpson index	Chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index	覆盖度 Coverage
HX	T	5.04±0.21aα	0.95±0.006aα	94.86±10.15aα	100.33±11.42aα	0.92±0.01aβ
	B	4.8±0.11aα	0.94±0.004aα	94.25±12.97aαβ	100.71±13.93aα	0.92±0.01aα
	H	4.02±0.17bβ	0.89±0.02bβ	70.23±10.03bβ	83.55±11.89aα	0.94±0.01aαβ
HJ	T	4.39±0.19aβ	0.92±0.011bβ	56.22±9.65bγ	59.64±10.34bβ	0.96±0.01aα
	B	4.76±0.3aα	0.93±0.015abα	119.70±22.64aα	108.67±16.98aα	0.92±0.01bα
	H	4.96±0.15aα	0.95±0.011aα	98.00±17.06aα	86.43±6.24aα	0.93±0.01abβ
ZJ	T	5.07±0.07aα	0.95±0.005aα	74.14±8.08aβ	75.17±5.92aβ	0.95±0.01aα
	B	4.83±0.31abα	0.93±0.027abα	78.81±8.63aβ	83.72±10.02aα	0.94±0.01aα
	H	4.37±0.31bβ	0.90±0.035bβ	68.43±10.92aβ	71.43±11.22aα	0.95±0.00aα

不同字母表示在 5% 的显著性水平下有差异($P<0.05$),a、b 表示同一研究区不同演替阶段间 AMF 丰富度与多样性的差异, α 、 β 、 γ 表示同一演替阶段不同研究区间 AMF 丰富度与多样性的差异;ACE:ACE 指数,abundance-based coverage estimation index

2.4 不同植被演替阶段 AMF 群落主成分分析

PCA 分析表明各采样点除织金乔木与草地演替阶段外,其余各采样点重复间的群落组成均差异较小。在同一研究区不同演替阶段:花江草地与灌木演替阶段 AMF 群落组成差异小,而乔木与草地和灌木间 AMF 群落组成差异大;花溪乔木与灌木演替阶段 AMF 群落组成差异小,与草地演替阶段差异大;织金乔、灌、草演替阶段 AMF 群落组成差异均较大。在同一演替阶段不同研究区:各研究区的乔木、灌木及草地演替阶段均相隔较远的距离,表明同一演替阶段的不同研究区 AMF 群落组成均有较大差异(图 2)。

2.5 AMF 群落多样性与土壤理化性质相关性

AMF 多样性指数与环境因子的 Spearman 相关性分析表明:土壤全磷与 ACE 指数显著负相关($P<0.05$),且与 Chao1 指数极显著负相关($P<0.01$);速效磷与香农和辛普森指数显著负相关($P<0.05$);速效钾与各多样性指数呈现正相关关系,全氮和有机质与各多样性指数呈现负相关关系,但差异均不显著(表 6)。

由土壤 AMF OTU 与理化性质的典型典范对应分析结果排序图可知:第一主轴和第二主轴对 AMF 群落分布方差的解释比例分别为 30.4% 和 20.1%,两者共解释 50.5% 的方差变化。在第一主轴上,土壤 pH、全磷和速

效钾为主要影响因子(相关系数为 0.976、0.971、0.888);在第二主轴上,土壤全氮、有机质、水解氮和速效磷为主要影响因子(相关系数分别为 0.993、-0.887、-0.883 和 -0.812)。除土壤 pH 与速效磷外,其余理化性质均与 AMF 群落分布有显著相关性,其中有机质为显著相关($P<0.05$),其余为极显著相关($P<0.01$)。土壤全氮与其余理化性质为负相关关系(图 3)。

表 6 AMF 多样性指数与土壤理化性质的 Spearman 相关系数

	pH	全磷 Total phosphorus	全氮 Total nitrogen	速效磷 Available phosphorus	速效钾 Available kalium	水解氮 Hydrolysis nitrogen	有机质 Organic matter
香农指数 Simpson index	-0.018	-0.009	-0.296	-0.429 *	0.068	0.004	-0.128
辛普森指数 Simpson index	-0.063	0.142	-0.253	-0.425 *	0.015	0.093	-0.212
Chao1 指数 Chao1 index	0.380	-0.510 **	-0.230	-0.062	0.206	-0.106	-0.094
ACE 指数 ACE index	0.280	-0.474 *	-0.238	0.082	0.317	-0.005	-0.136

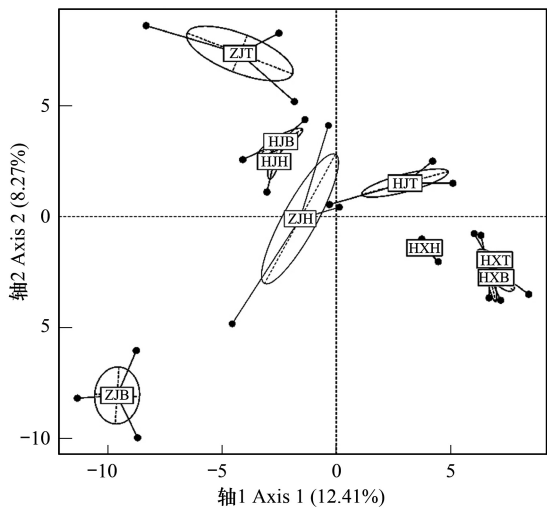


图 2 不同演替阶段 PCA 分析
Fig.2 Analysis of PCA in different stage of succession

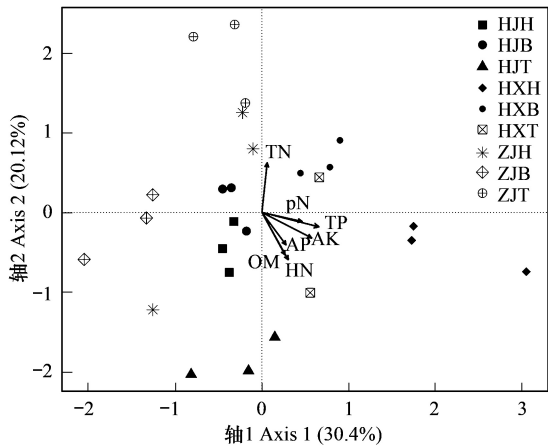


图 3 AMF 群落与土壤理化性质 CCA 分析
Fig.3 Canonical Correlation Analysis between AMF community and soil physicochemical property
TN:全氮, Total nitrogen; TP:全磷, Total phosphorus; AK:速效钾, Available kalium; AP:速效磷, Available phosphorus; HN:水解氮, Hydrolysis nitrogen; OM:有机质, Organic matter

3 结论与讨论

本研究从基因水平上考察了 3 个典型喀斯特区域不同自然演替阶段的 AMF 多样性,结果表明各样地均有较高的 AMF 多样性,种属水平的 AMF 丰度变化趋势均为花江>花溪>织金,且各样地优势属均为根孢囊霉属,该结果与本研究所用形态学方法及大多数文献所报道的结果有一定的差异^[13]。魏源等^[15]利用巢式 PCR 与变性梯度凝胶电泳相结合的分子生物学方法,表明球囊霉属(*Glomus*)极有可能是喀斯特地区 AMF 的优势菌属,Likar 等^[37]研究喀斯特土壤中的 AMF 多样性及其分布,同样发现球囊霉属是喀斯特生境中稳定存在的优势属。有学者曾在其研究中分别采用形态学鉴定、定量 PCR 与 PCR-DGGE 及 454 高通量测序技术对长期不同施肥作用下的土壤 AMF 群落结构及物种多样性进行研究,结果发现不同方法所得的次优势属种以及所鉴定的种属数目均有所差异,因此,产生差异的原因可能与不同方法本身的优劣性及分辨率有一定的

关系^[38]。

AMF 通过菌丝网络调节植被群落结构及演替,从而影响生态系统稳定及功能^[39]。刘永俊等^[40]及 Zangrao 等^[41]研究结果均表明:不同演替阶段 AMF 多样性会随着植物演替进行而降低,与本研究中华江研究区 AMF 多样性变化趋势一致(表 4),而花溪和织金研究区的 AMF 多样性却随着演替进行而增加。其原因可能是:(1)本文的研究对象是自然演替过程中的土壤 AMF 多样性,植物群落及多样性均有较大差异(表 1),而刘永俊等研究反映的是以柠条为优势物种的人工植被演替生态系统中侵染了柠条根系的 AMF 多样性,植物多样性则十分匮乏,钟凯等^[42]对泰山植被根围 AMF 群落结构、数量、组成及植物多样性研究发现,植物多样性对于提高 AMF 多样性发挥极为重要的作用,Hiiesalu 等^[43]在其研究中也指出 AMF 物种丰度与植物物种丰度呈显著正相关关系。(2)Zangrao 等采用形态学方法研究 AMF 多样性,但不同种类 AMF 的产孢能力不同,且 AMF 的侵染能力也存在很大差异,可能不能真实地反映土壤中的 AMF 多样性^[38]。本研究所选 3 个研究区所呈现的不同演替阶段 AMF 多样性变化趋势不一,其原因可能与各研究区有一定的地理距离相关,Xu 等^[44]研究结果表明地理距离解释了 AMF 的系统发育格局,AMF 群落组成会受到扩散限制值的影响。

已有研究表明,AMF 丰度及多样性会随着土壤养分的供应情况发生变化,土壤理化性质对 AMF 群落结构及多样性有重要影响^[45-46]。本研究结果显示土壤全磷与 AMF 丰富度指数显著负相关,速效磷与 AMF 多样性指数显著负相关,表明土壤全磷和速效磷是影响 AMF 丰度和多样性的主导因子,该结果与梁月明等^[47-48]研究结果一致,而杨春雪等^[49]研究表明土壤全磷与 AMF 物种丰度呈显著正相关关系,有学者曾指出,一定范围内的低量速效磷会促进 AMF 的生长,而过高的速效磷含量会抑制 AMF 的生长及发育^[50-51]。CCA 分析表明土壤全氮、水解氮、有机质、全磷和速效钾对 AMF 群落影响差异显著,pH 却差异不显著,该结果与张玉洁等^[52]认为土壤 pH 为影响 AMF 多样性的主要土壤因子不一致,导致该结果的原因可能与土壤本身固有属性有关,成土母质及元素组成决定了 pH 值的相似性,在同一区域的土壤类型,其 pH 值空间变异性较低^[53],从而对 AMF 多样性没有显著影响。

参考文献(References):

- [1] Wang B, Qiu Y L. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, 2006, 16(5): 299-363.
- [2] Smith S E, Read D J. *Mycorrhizal Symbiosis*. London: Academic Press, 1997: 1-20.
- [3] van der Heijden M G A, Bardgett R D, van Straalen N M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 2010, 11(3): 296-310.
- [4] 刘敏, 峥嵘, 白淑兰, 王璐钢, 李龙, 段国珍. 丛枝菌根真菌物种多样性研究进展. *微生物学通报*, 2016, 43(8): 1836-1843.
- [5] 彭旭东, 戴全厚, 李昌兰. 中国西南喀斯特坡地水土流失/漏失过程与机理研究进展. *水土保持学报*, 2017, 31(5): 1-8.
- [6] 宋同清, 彭晚霞, 杜虎, 王克林, 曾馥平. 中国西南喀斯特石漠化时空演变特征、发生机制与调控对策. *生态学报*, 2014, 34(18): 5328-5341.
- [7] 陈圣子, 周忠发, 闫利会. 人为干预对石漠化治理过程中生态系统健康的影响. *水土保持研究*, 2016, 23(2): 213-219.
- [8] 邢丹, 王震洪, 张爱民, 付文婷, 韩世玉. 菌根桑恢复喀斯特石漠化地区的研究探讨(英文). *Agricultural Science & Technology*, 2014, 15(11): 1998-2002.
- [9] Chen K, Shi S M, Yang X H, Huang X Z. Contribution of arbuscular mycorrhizal inoculation to the growth and photosynthesis of mulberry in Karst Rocky Desertification Area. *Applied Mechanics and Materials*, 2014, 488-489: 769-773.
- [10] 杨应, 蒋长洪, 何跃军, 欧静, 王鹏鹏, 司建朋, 何敏红, 林艳. 丛枝菌根网对喀斯特适生植物氮、磷化学计量特征的影响. *植物生理学报*, 2017, 53(12): 2078-2090.
- [11] 吴春玉, 蒋长洪, 谢佩耘, 何跃军, 杨俊松. 干旱胁迫对接种 AMF 的香樟幼苗生物量分配及生长的影响. *重庆师范大学学报: 自然科学版*, 2015, 32(6): 109-115.
- [12] 何跃军, 钟章成. 喀斯特土壤上香樟幼苗接种不同 AM 真菌后的耐旱性效应. *植物研究*, 2011, 31(5): 597-602.
- [13] 何跃军, 吴春玉, 何丙辉, 丁贵杰, 孙学广, 高秀兵. 喀斯特不同植被恢复阶段土壤 AMF 组成及多样性研究. *水土保持学报*, 2016, 30(5): 305-309, 321-321.
- [14] 魏源, 王世杰, 刘秀明, 黄天志. 喀斯特地区丛枝菌根真菌遗传多样性. *生态学杂志*, 2011, 30(10): 2220-2226.
- [15] 魏源, 王世杰, 刘秀明, 黄天志. 不同喀斯特小生境中土壤丛枝菌根真菌的遗传多样性. *植物生态学报*, 2011, 35(10): 1083-1090.

- [16] 梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧. 岩性对喀斯特灌丛土壤固氮菌与丛枝菌根真菌群落结构及丰度的影响. 环境科学, 2017, 38(3): 1253-1261.
- [17] 魏源, 王世杰, 刘秀明, 黄天志. 丛枝菌根真菌及在石漠化治理中的应用探讨. 地球与环境, 2012, 40(1): 84-92.
- [18] Barni E, Siniscalco C. Vegetation dynamics and arbuscular mycorrhiza in old-field successions of the western Italian Alps. Mycorrhiza, 2000, 10(2): 63-72.
- [19] Roy J, Reichel R, Brüggemann N, Hempel S, Rillig M C. Succession of arbuscular mycorrhizal fungi along a 52-year agricultural recultivation chronosequence. FEMS Microbiology Ecology, 2017, 93(9): 1-13.
- [20] de León D G, Moora M, Öpik M, Neuenkamp L, Gerz M, Jairus T, Vasar M, Bueno C G, Davison J, Zobel M. Symbiont dynamics during ecosystem succession: co-occurring plant and arbuscular mycorrhizal fungal communities. FEMS Microbiology Ecology, 2016, 92(7): 1-9.
- [21] Xiang D, Chen B D, Li H. Specificity and selectivity of arbuscular mycorrhizal fungal polymerase chain reaction primers in soil samples by clone library analyses. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science, 2015, 66(4): 333-339.
- [22] De Beenhouwer M, Van Geel M, Ceulemans T, Muleta D, Lievens B, Honnay O. Changing soil characteristics alter the arbuscular mycorrhizal fungi communities of Arabica coffee (*Coffea arabica*) in Ethiopia across a management intensity gradient. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 91: 133-139.
- [23] Liang Y M, He X Y, Chen C Y, Feng S Z, Liu L, Chen X B, Zhao Z W, Su Y R. Influence of plant communities and soil properties during natural vegetation restoration on arbuscular mycorrhizal fungal communities in a karst region. Ecological Engineering, 2015, 82: 57-65.
- [24] Van Geel M, Ceustermans A, Van Hemelrijck W, Lievens B, Honnay O. Decrease in diversity and changes in community composition of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of apple trees with increasing orchard management intensity across a regional scale. Molecular Ecology, 2015, 24(4): 941-952.
- [25] Dai M L, Hamel C, Bainard L D, Arnaud M S, Grant C A, Lupwayi N Z, Malhi S S, Lemke R. Negative and positive contributions of arbuscular mycorrhizal fungal taxa to wheat production and nutrient uptake efficiency in organic and conventional systems in the Canadian prairie. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 74: 156-166.
- [26] Magoč T, Salzberg S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. Bioinformatics, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [27] Bokulich N A, Subramanian S, Faith J J, Gevers D, Gordon J I, Knight R, Mills D A, Caporaso J G. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. Nature Methods, 2013, 10(1): 57-59.
- [28] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman F D, Costello E K, Fierer N, Peña A G, Goodrich J K, Gordon J I, Huttley G A, Kelley S T, Knights D, Koenig J E, Ley R E, Lozupone C A, McDonald D, Muegge B D, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky J R, Turnbaugh P J, Walters W A, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. Nature Methods, 2010, 7(5): 335-336.
- [29] 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.
- [30] Haas B J, Gevers D, Earl A M, Feldgarden M, Ward D V, Giannoukos G, Ciulla D, Tabbaa D, Highlander S K, Sodergren E, Methé B, DeSantis T Z, Petrosino J F, Knight R, Birren B W. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. Genome Research, 2011, 21(3): 494-504.
- [31] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998.
- [32] Altschul S F, Gish W, Miller W, Myers E W, Lipman D J. Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology, 1990, 215(3): 403-410.
- [33] Kõljalg U, Nilsson R H, Abarenkov K, Tedersoo L, Taylor A F S, Bahram M, Bates S T, Bruns T D, Bengtsson-Palme J, Callaghan T M, Douglas B, Drenkhan T, Eberhardt U, Dueñas M, Grebenc T, Griffith G W, Hartmann M, Kirk P M, Kohout P, Larsson E, Lindahl B D, Lücking R, Martín M P, Matheny P B, Nguyen N H, Niskanen T, Oja J, Peay K G, Peintner U, Peterson M, Pöldmaa K, Saag L, Saar I, Schüßler A, Scott J A, Senés C, Smith M E, Suija A, Taylor D L, Telleria M T, Weiss M, Larsson K H. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. Molecular Ecology, 2013, 22(21): 5271-5277.
- [34] Edgar R C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. Nucleic Acids Research, 2004, 32(5): 1792-1797.
- [35] 张韫. 土壤·水·植物理化分析教程. 北京: 中国林业出版社, 2011.
- [36] 王幼珊, 刘润进. 球囊菌门丛枝菌根真菌最新分类系统菌种名录. 菌物学报, 2017, 36(7): 820-850.
- [37] Likar M, Hančević K, Radić T, Regvar M. Distribution and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in grapevines from production vineyards along the eastern Adriatic coast. Mycorrhiza, 2013, 23(3): 209-219.
- [38] 林先贵, 胡君利, 戴珏, 王发园, 冯有智. 丛枝菌根真菌群落结构与多样性研究方法概述及实例比较. 应用与环境生物学报, 2017, 23(2): 343-350.

- [39] 向丹, 徐天乐, 李欢, 陈保冬. 丛枝菌根真菌的生态分布及其影响因子研究进展. 生态学报, 2017, 37(11): 3597-3606.
- [40] 刘永俊, 冯虎元. 不同演替阶段人工柠条林丛枝菌根真菌分子多样性研究. 中国沙漠, 2009, 29(6): 1141-1147.
- [41] Zangaro W, Alves R A, Lescano L E, Ansanelo A P, Nogueira M A. Investment in fine roots and arbuscular mycorrhizal fungi decrease during succession in Three Brazilian Ecosystems. Biotropica, 2012, 44(2): 141-150.
- [42] 钟凯, 袁玉清, 赵洪海, 王森焱, 刘润进. 泰山丛枝菌根真菌群落结构特征. 菌物学报, 2010, 29(1): 44-50.
- [43] Hiiesalu I, Pärtel M, Davison J, Gerhold P, Metsis M, Moora M, Öpik M, Vasar M, Zobel M, Wilson S D. Species richness of arbuscular mycorrhizal fungi: associations with grassland plant richness and biomass. New Phytologist, 2014, 203(1): 233-244.
- [44] Xu T L, Veresoglou S D, Chen Y L, Rillig M C, Xiang D, Ondřej X D, Hao Z P, Liu L, Deng Y, Hu Y J, Chen W P, Wang J T, He J Z, Chen B D. Plant community, geographic distance and abiotic factors play different roles in predicting AMF biogeography at the regional scale in northern China. Environmental Microbiology Reports, 2016, 8(6): 1048-1057.
- [45] Alguacil M M, Torrecillas E, Lozano Z, Roldán A. Arbuscular mycorrhizal fungi communities in a coral cay system (Morrocoy, Venezuela) and their relationships with environmental variables. Science of the Total Environment, 2015, 505: 805-813.
- [46] Xiang D, Verbruggen E, Hu Y J, Veresoglou S D, Rillig M C, Zhou W P, Xu T L, Li H, Hao Z P, Chen Y L, Chen B D. Land use influences arbuscular mycorrhizal fungal communities in the farming-pastoral ecotone of northern China. New Phytologist, 2014, 204(4): 968-978.
- [47] 梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧, 胡亚军. 喀斯特灌丛土壤丛枝菌根真菌群落结构及丰度的影响因子. 环境科学, 2017, 38(11): 4828-4835.
- [48] Gosling P, Mead A, Proctor M, Hammond J P, Bending G D. Contrasting arbuscular mycorrhizal communities colonizing different host plants show a similar response to a soil phosphorus concentration gradient. New Phytologist, 2013, 198(2): 546-556.
- [49] 杨春雪, 陈飞, 岳英男, 阎秀峰. 松嫩盐碱草地 26 种植物根围丛枝菌根真菌多样性特征. 草业科学, 2015, 32(12): 2008-2020.
- [50] Tawaray K, Saito M, Morioka M, Wagatsuma T. Effect of phosphate application to arbuscular mycorrhizal onion on the development and succinate dehydrogenase activity of internal hyphae. Soil Science and Plant Nutrition, 1994, 40(4): 667-673.
- [51] Deepika S, Kothamasi D. Soil moisture—a regulator of arbuscular mycorrhizal fungal community assembly and symbiotic phosphorus uptake. Mycorrhiza, 2015, 25(1): 67-75.
- [52] 张玉洁, 贺学礼, 程春泉, 赵金莉, 赵丽莉. 新疆沙冬青 AM 真菌群落结构与遗传多样性分析. 菌物学报, 2015, 34(3): 375-385.
- [53] 高鹏, 付同刚, 王克林, 陈洪松, 曾馥平. 喀斯特峰丛洼地小流域表层土壤养分的空间异质性. 农业现代化研究, 2013, 34(3): 362-366.