#### DOI: 10.5846/stxb201912232765

王诗慧,常顺利,李鑫,张毓涛.天山林区土壤真菌多样性及其群落结构.生态学报,2021,41(1):124-134. Wang S H, Chang S L, Li X, Zhang Y T.Soil fungal diversity and its community structure in Tianshan Forest. Acta Ecologica Sinica, 2021,41(1):124-134.

## 天山林区土壤真菌多样性及其群落结构

王诗慧<sup>1</sup>,常顺利<sup>1,\*</sup>,李 鑫<sup>1</sup>,张毓涛<sup>2</sup>

1 新疆大学资源与环境科学学院绿洲生态教育部重点实验室, 乌鲁木齐 830046 2 新疆林科院森林生态研究所, 乌鲁木齐 830063

摘要:土壤真菌群落结构对森林生态系统功能的维持具有重要作用,目前对天山林区土壤微生物的种类和群落结构了解甚少。 为了解天山不同植被类型下土壤真菌的群落动态及优势菌属,使用 Illumina MiSeq 高通量测序技术,研究天山林区根际土与非 根际土中真菌群落组成及多样性。结果表明:(1)对有效序列进行 OTU 聚类(operational taxonomic unit)后共得到 14121 个 OTUs,经注释划分为 7 个门、33 个纲、109 个目、255 个科、444 个属、677 个种;(2)子囊菌门(Ascomycota)和担子囊菌门 (Basidiomycota)是天山植物的优势菌门,灌丛中相对丰度较高的有帚枝霉属(*Sarocladium*)、鬼笔属(*Lysurus*)、*Microidium*;云杉 林中相对丰度较高的属有镰刀属(*Fusarium*)、赤霉属(*Gibberella*)、丝盖伞属(*Inocybe*);(3)灌丛与云杉林土壤真菌的群落结构 和丰富度有显著差异,灌丛土壤真菌的多样性和丰富度更高,云杉林中阴坡的土壤真菌丰富度较高而阳坡和林窗较低;(4)丝 盖伞属(*Inocybe*)、被孢霉属(*Mortierella*)、赤霉属(*Gibberella*)、镰刀属(*Fusarium*)与云杉的生长可能具有密切的关系。本文推 测,根际土壤真菌的多样性和丰富度较低可能是导致云杉幼苗成活率低等更新障碍的问题。 关键词:土壤真菌;高通量测序;根际土;云杉森林;天山

## Soil fungal diversity and its community structure in Tianshan Forest

WANG Shihui<sup>1</sup>, CHANG Shunli<sup>1,\*</sup>, LI Xin<sup>1</sup>, ZHANG Yutao<sup>2</sup>

1 Key Laboratory of Oasis Ecology under the Ministry of Education, College of Resources and Environmental Science, Xinjiang University, Urumqi 830046, China

2 Institute of Forest Ecology, Xinjiang Academy of Forestry, Urumqi 830063, China

Abstract: The soil fungal community structure is critical toward maintaining the function of the forest ecosystem. Little is currently known about the types and community structure of soil microorganisms in the Tianshan Forest Region. Using Illumina MiSeq high-throughput sequencing technology, the composition and diversity of fungal communities in the rhizosphere and non-rhizosphere soil in the Tianshan Forest Region were studied. The results showed that: (1) A total of 14121 OTUs were obtained after OTU clustering of valid sequences, which were divided into 7 phyla, 33 classes, 109 orders, 255 families, 444 genera, and 677 species; (2) Ascomycota and Basidiomycota are the dominant phyla amongst the Tianshan plants. Sarocladium, Lysurus, and Microidium are relatively abundant genera amongst the shrubs and *Fusarium*, Gibberella, and Inocybe are relatively abundant genera in the spruce forest; (3) The community structure and richness of soil fungi in shrub and spruce forests are significantly different along with diverse fungi in shrub soil. The abundance of soil fungi is higher in the shady slopes of the spruce forest and lower in the sunny slopes and forest windows; (4) Inocybe, Mortierella, Gibberella, Fusarium, and spruce growth may be closely related. This study speculates that low diversity and richness of rhizosphere soil fungi may result in regeneration issues, such as the low survival rate of spruce seedlings.

收稿日期:2019-12-23; 网络出版日期:2020-11-19

基金项目:国家自然科学基金项目(U1503187)

<sup>\*</sup> 通讯作者 Corresponding author.E-mail: ecocsl@163.com

#### Key Words: Soil fungi; high-throughput sequencing; rhizosphere; spruce; Tianshan mountains

真菌能够分解有机质、参与物质和能量循环,是土壤微生物多样性的重要组成部分。土壤真菌的种类结构可以作为评价土壤生态状况的重要生物指标,而土壤真菌群落的结构又受植物物种及其根系分泌物的影响<sup>[1-3]</sup>。在全球尺度上,土壤真菌丰富度与植物多样性存在直接的相关关系<sup>[4]</sup>;青藏高原高寒草原土壤真菌的α多样性和β多样性与地上植物的α多样性和β多样性呈现出强烈耦合关系,地上植物多样性是制约土壤真菌多样性的首要因素<sup>[5]</sup>。而土壤真菌也是植被参与生态系统循环的重要推动者,通过共生或者病原方式与植物构成密切的联系。因此,了解土壤真菌群落结构对于探索植物繁育、疾病防治、评价生态系统功能、维护生态系统平衡等方面至关重要。

通常,土壤真菌群落基于传统的培养方法进行分析,已经清楚地证明了植物对真菌群落的依赖性<sup>[6]</sup>。然 而,传统培养所能得到的土壤真菌数量非常少,有许多真菌无法直接被分离培养。高通量测序就是从土壤中 直接提取总 DNA 富集后进行测序,具有高效、信息全面等特点,为土壤微生物的研究提供有利手段<sup>[7,8]</sup>。

天山山系是亚欧大陆最大的东西走向的独立山系之一,天山林区在涵养水源、调节气候、固碳释氧等方面 具有非常重要的生态系统功能<sup>[9]</sup>。天山林区以雪岭云杉(*Picea schrenkiana*)纯林为主,在涵养水源、积累营养 物质、保护生物多样性等方面具有重要的生态功能。雪岭云杉林缘、林窗及林下的灌木主要有枸子 (*Cotoneastermelanocarpus*)、异果小檗(*Berberis heteropoda*)、密刺蔷薇(*Rosa spinosissima*)、金丝桃叶绣线菊 (*Spiraea hypericifolia*)、新疆方枝柏(Sabina pseudosabina)、锦鸡儿(*Caragana Fabr*)、刚毛忍冬(*Lonicera hispida*)等,林下土壤类型为典型山地灰褐色森林土<sup>[10]</sup>。雪岭云杉一直被报道存在老龄化严重,幼苗成活率 低等更新不良的问题,目前关于天山植物的研究大多基于种群空间变化或生态化学计量等方面的研究<sup>[11-12]</sup>, 对植物与土壤真菌多样性及其群落结构的关系研究较少。基于此,本研究使用 Illumina MiSeq 高通量测序技 术,分析了天山不同植被类型的根际土与非根际土中真菌群落组成及多样性,探讨了不同植物土壤微生物的 群落动态及优势菌属,以期为探寻影响云杉生长的优势菌属、对天山植物的保护及经营管理提供理论基础。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

本文的土壤样品采集于天山森林生态系统定位研究站(87°07′—87°28′E,43°14′—43°26′N,驻地海拔 1908 m),年均气温 2—5℃,年降水量 400—600 mm,土壤类型为灰褐色森林土。选择 6 种植被为研究对象取 土壤样品,分为别为 5 种灌木的根际土与非根际土,不同生境下云杉的根际土与非根际土,共 12 个处理样品, 每个处理 3 次重复取样,共计 36 个测试土样。天山北坡为阳坡,5 种灌木分布在海拔 1600—1760 m 之间;采 样时选取海拔、林分密度基本相同的灌木纯林,设置 10 m×10 m 的样方,每种灌木设置三个样方,样方内采用 5 点法取样,去除表面凋落物后用抖落法取灌木根际土样;云杉林分布于海拔 1760—2800 m 之间,阴坡的云 杉生长状况优于阳坡,用以上相同方法取云杉的根际土与非根际土,但云杉林窗面积较小且没有植物生长,一 个林窗为一个样方,3 个样方之间间隔 20 m 以上,去掉表面凋落物后挖到云杉根系时采集根际土,未挖到根 系的表层土为非根际土。将同处理土样混合均匀并取出可见的植物根系和动植物残体并保存于灭菌的密封 袋冷藏带回,带回实验室后立即过 2 mm 土壤筛编号(表 1)并分为两份,一份用于土壤理化性质的测定,一份 用于土壤真菌 DNA 提取。

#### 1.2 测序分析

采用 MoBio 试剂盒法提取土壤样品 DNA,之后用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度。稀释 后的基因组 DNA 为模板,对真菌 ITS1 区域进行 PCR 扩增,引物序列为 ITS1:5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3', ITS4:5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3';使用 New England Biolabs 公司的 Phusion<sup>®</sup> High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer 和高效高保真的酶进行 PCR,确保扩增效率和准确性。PCR 产物用 2%浓度的琼脂 糖凝胶电泳进行检测,选择主带大小在 400—450 bp 之间的序列,割胶回收目标条带。由诺禾致源生物科技有限公司使用 Illumina 公司 TruSeq DNA PCR-Free Library Preparation Kit 建库试剂盒进行文库的构建,构建好的文库经过 Qubit 定量和文库检测,合格后使用 HiSeq 进行上机测序。

Table 1 Serial number								
样品编号 Serial number	坡向 Aspect	采样地 Sample site	分组 Group	样品编号 Serial number	坡向 Aspect	采样地 Sample site	分组 Group	
W1	阳坡	小叶锦鸡儿根际土	S1(灌丛)	W7	阳坡	云杉非根际土	S2(云杉林)	
W2		忍冬根际土		W8	阳坡	云杉根际土		
W3		绣线菊根际土		W9	阴坡	云杉林窗处非根际土		
W4		小檗根际土		W10	阴坡	云杉林窗处根际土		
W5		蔷薇根际土		W11	阴坡	云杉非根际土		
W6		灌木非根际土		W12	阴坡	云杉根际土		

表1 样品编号

W1:小叶锦鸡儿根际土 Rhizosphere soil of Caragana Fabr;W2:忍冬根际土 Rhizosphere soil of Lonicera hispida;W3:绣线菊根际土 Rhizosphere soil of Spiraea hypericifolia;W4:小檗根际土 Rhizosphere soil of Berberis heteropoda;W5:蔷薇根际土 Rhizosphere soil of Rosa spinosissima;W6:灌木非 根际土 Non-rhizosphere soil of Shrubs;W7:阳坡处云杉非根际土 Non-rhizosphere soil on the sunny slope of Picea schrenkiana;W8:阳坡处云杉根际土 Rhizosphere soil on the sunny slope of Picea schrenkiana;W9:云杉林窗处非根际土 Non-rhizosphere soil at the Picea schrenkiana gap;W10:云杉林窗处 根际土 Rhizosphere soil at the Picea schrenkiana gap;W11:阴坡处云杉非根际土 Non-rhizosphere soil of Picea schrenkiana on shady slope;W12:阴坡处 云杉根际土 Rhizosphere soil of Picea schrenkiana on shady slope

## 1.3 土壤理化性质分析

土壤样品风干后过 0.149 mm 筛,土壤总有机碳(Total Organic Carbon,TOC)采用重铬酸钾氧化-外加热法 测定;土壤全 N(Total Nitrogen,TN)采用扩散法;土壤全 P(Total Phosphorus,TP)采用酸溶-钼锑抗比色法;土 壤全 K(Total Potassium,TK)采用 NaOH 碱熔-火焰光度计测定法。

## 1.4 数据分析与处理

使用 Excel 2017 对土壤样品中 C、N、P、K 的数据进行分析;对 ITS1 区进行测序,下机所得原始数据(Raw data)经滤除后得到高质量数据(Clean data),使用 FLASH v1.2.7 软件、Trimmomatic v0.33 软件、UCHIME V4.2 软件获得样品的有效数据(Effective data)并在 97%的相似度水平下进行聚类获得 OTUs,每个 OTU 认为可代 表一个物种。使用 Qiime 软件计算微生物群落的 α 多样性指数,群落多样性用 Shannon 指数和 Simpson 指数 表示,Chao 指数表示土壤微生物群落的丰富度,Coverage 指数表示测序深度。利用样本间生物学距离进行 β 多样性分析。选取 OTUs 的代表性序列用对不同样品内微生物进行物种注释分析,获得分类学信息并分别在 界(Kingdom)、门(Phylum)、纲(Class)、目(Order)、科(Family)、属(Genus)、种(Species)分类水平统计个样本 的群落组成,利用 Qiime 生成不同分类水平上的物种丰度表,再使用 R 语言工具绘制样品各分类学水平下的 群落结构图、Venn 图、稀释曲线图。使用 Canoco 5 中的冗余分析(Redundancy Analysis,RDA),探讨不同环境 因子对真菌群落的影响。

## 2 结果与分析

#### 2.1 不同植被类型土壤理化指标

对两组样品的土壤理化性质进行测定,天山土壤有机碳含量较高,天山云杉林下土壤有机碳、全氮、全磷 含量高于灌丛,云杉与灌木土壤理化性质差异并不明显。

### 2.2 山林区土壤样品的测序结果

滤除低质量和短序列的读数后共得到 957120 条序列,为研究样品的物种组成多样性,对所得优质序列按 ≥97%的相似度进行 OTU 聚类,得到 14121 个 OTUs,数据有效率为 95.03%—98.68%,灌丛(S1)和云杉林

(S2)得到的有效序列分别为97.19%和97.18%,说明原始数据利用率较高,绝大部分都可以用于后续的数据 分析。随着测序数量的增加,所有样品的稀释曲线的斜率逐渐上升,最终都趋向于平缓(图1),且 alpha 多样 性的文库覆盖度都大于0.99(表4),说明测序数据可以反映样品中真菌群落的实际情况。

表 2 天山林区不同植被类型土壤理化指标

Table 2 Soil physical and chemical indexes of different vegetation types in Tianshan forest								
理化指标 Physical and chemical index	灌丛(S1) Shrub	云杉林(S2) Spruce	理化指标 Physical and chemical index	灌丛(S1) Shrub	云杉林(S2) Spruce			
TOC/(g/kg)	63.80±15.83	124.86±44.91	TP/(g/kg)	0.85±0.22	1.02±0.22			
TN/(g/kg)	1.40±0.29	$2.21 \pm 0.71$	TK/(g/kg)	24.31±2.07	21.47±2.77			

TOC:土壤总有机碳 Total Organic Carbon;TN:土壤全 N Total Nitrogen;TP:土壤全 P Total Phosphorus;TK:土壤全 K Total Potassium

1500 W1 W2 观察物种数 Observed species number W3 W4 W5 1000 W6 W7 W8 W9 W10 W11 500 - W12 0 10000 20000 60000 0 30000 40000 50000 测序数量 Sequences number



#### Fig.1 Rarefaction curves of OTU dilution curve in different vegetation types

S1:灌丛;S2:云杉林;W1:小叶锦鸡儿根际土;W2:忍冬根际土;W3:绣线菊根际土;W4:小檗根际土;W5:蔷薇根际土;W6:灌木非根际土;W7:阳坡处云杉非根际土;W8:阳坡处云杉根际土;W9:云杉林窗处非根际土;W10:云杉林窗处根际土;W11:阴坡处云杉非根际土;W12:阴坡处云杉根际土

#### 2.3 不同植被类型下土壤真菌的多样性

反映土壤真菌的多样性的 Shanno 指数、Simpson 指数和反映物种丰富度的 Chaol 指数、ACE 指数表明,真 菌群落结构和丰富度在不同植被类型中差异显著(表3)。总体来说,灌丛的真菌多样性和丰富度高于云杉 林,非根际土中真菌的多样性和丰富度高于根际土,其中小叶锦鸡儿(W1)的土壤真菌多样性和丰富度都显 著高于其他植被类型,云杉林窗处根际土(W10)的真菌多样性和丰富度最低。云杉林中,阴坡的土壤真菌群 落结构和丰富度较高,阳坡次之,林窗最低。

2.4 不同植被类型土壤真菌群落 OTU 特异性分析

使用韦恩图分析天山林区土壤真菌的物种组成(图 2)。灌丛(S1)和云杉林(S2)分别检测到 2989 和 2458 个 OTU,两组共有 OTU 数量为 1723 个,占各组 OTU 的 57.64% 和 70.09%。S1 中,W1—W6 共有的 OTU 数量为 201,各自特有的 OTU 占总 OTU 的 17.91%、11.08%、5.69%、8.61%、4.61%、3.35%,非根际土(W6)中的 真菌多样性要低于根际土。S2 中,W7—W12 共有的 OTU 数量为 139 个,各样品特有 OTU 数目占总 OTU 的

4.97%、7.69%、17.74%、2.41%、13.54%、10.87%, W10 特有的 OUT 数最少, W9 最多。灌丛和云杉林的根际土

中,共有的 OTU 数目为 148,特有 OTU 数目 W1>W2>W12>W4>W3>W8>W5>W10;由以上可知,云杉林根际 土中特有 OTU 数量少于灌木;灌丛根际土和云杉林窗的根际土中特有 OTU 数量大于非根际土;阳坡和阴坡 的云杉非根际土中特有的 OTU 数目都大于根际土。

Table 3 $\alpha$ diversity indices in different vegetation types from the sequencing results								
样品名称 Sample Name	香浓多样性指数 Shannon	辛普森指数 Simpson	Chao1 指数 Chao1	ACE 指数 ACE	覆盖度 Goods coverage			
W1	7.769±0.421a	0.981±0.0087a	1691.427±128.653a	1686.939±105.271a	0.996±0.001a			
W2	$7.434 \pm 0.564a$	0.983±0.0025a	1535.406±146.357a	$1528.319 \pm 139.456 \mathrm{b}$	0.996±0.001a			
W3	$6.173{\pm}1.231\mathrm{bc}$	0.946±0.0041a	$1270.276 {\pm} 108.657 {\rm c}$	$1283.44 \pm 89.432 c$	0.996±0.001a			
W4	7.021±0.421a	0.969±0.0039a	$1316.632{\pm}113.478{\rm b}$	$1321.997 \pm 125.349c$	0.997±0.001a			
W5	$6.272{\pm}0.213\mathrm{b}$	$0.962 \pm 0.0045 a$	$1067.007 {\pm} 86.543 {\rm d}$	$1069.393 \pm 89.438 d$	0.997±0.001a			
W6	$5.641 \pm 0.496c$	0.938±0.0023a	$842.874{\pm}104.327{\rm e}$	$879.044 \pm 101.323 e$	0.997±0.001a			
W7	7.321±0.571a	$0.988 \pm 0.0014a$	$879.000 \pm 69.725 e$	$946.938 \pm 114.842 e$	0.997±0.001a			
W8	$5.677 \pm 1.076c$	$0.937 \pm 0.0026a$	$860.612{\pm}76.354{\rm e}$	$877.785 \pm 67.462 e$	0.997±0.001a			
W9	$6.529{\pm}0.824\mathrm{b}$	$0.936 \pm 0.0064a$	$1289.667 {\pm} 107.327 {\rm c}$	$1294.242 \pm 105.674 c$	0.997±0.001a			
W10	$3.718{\pm}0.397\mathrm{d}$	$0.865{\pm}0.0037\mathrm{b}$	632.143±34.564f	$677.008 \pm 45.384 f$	0.997±0.001a			
W11	$6.986{\pm}0.524\mathrm{ab}$	$0.978 \pm 0.0042a$	$1335.789 {\pm} 109.658 {\rm b}$	$1354.531 \pm 104.956c$	0.996±0.001a			
W12	$5.999{\pm}0.347{\rm c}$	$0.936 \pm 0.0009a$	$1182.198 \pm 95.796 d$	$1196.923 {\pm} 102.348 \mathrm{d}$	0.996±0.001a			

表 3 不同植被类型土壤真菌 α 多样性统计分析

同列不同小写字母表示各指数在 0.05 水平上差异显著

## 2.5 不同植被类型下土壤真菌群落组成

对得到的 OTU 序列进行注释,分为 7 个门、33 个纲、109 个目、255 个科、444 个属、677 个种。通过对样品 进行种群组成分析,可以反映其在不同分类学水平上的群落结构,有利于分析样品之间的差异,从而分析其群 落结构组成的特点。菌群在门水平上占比最多的是子囊菌门(Ascomycota) 57.69%,其次为担子囊菌门 (Basidiomycota) 30.47%,接合菌门(Zygomycota) 9.35%、壶菌门(Chytridiomycota) 1.2% 和球囊菌门 (Glomeromycota) 1.1%(图 3)。其中子囊菌门(Ascomycota)和担子囊菌门(Basidiomycota)在灌丛和云杉林两 个组中分别占比为 62.48%、27.94%和 52.89%、32.98%,且在 11 个样品中相对丰度均大于 12%,显著高于其他 真菌,是优势菌门;云杉林中的担子囊菌门(Basidiomycota)和接合菌门(Zygomycota)占比数量显著高于灌丛; 子囊菌门(Ascomycota)在 W10 中丰度最大、担子囊菌门(Basidiomycota)在 W8 和 W12 中丰度较大、接合菌门 (Zygomycota)在 W9 中丰度最大。

图 3 分别显示样品中丰度排名前 10 的纲(Class)水平和属(Genus)水平的群落结构分类比较结果:相对 丰度较高的前 10 个纲种类为粪壳菌纲(Sordariomycetes)、伞菌纲(Agaricomycetes)、未定接合菌纲(Incertae\_ sedis\_Zygomycota)、座囊菌纲(Dothideomycetes)、锤舌菌纲(Leotiomycetes)、盘菌纲(Pezizomycetes)、古菌纲 (Archaeorhizomycetes)、散囊菌纲(Eurotiomycetes)、银耳纲(Tremellomycetes)、壶菌纲(Chytridiomycetes)(图 3),其中粪壳菌纲(Sordariomycetes)和伞菌纲(Agaricomycetes)丰度最高,在灌丛和云杉林中分别达到27.09%、 26.04%和 26.84%、31.45%。

从属的分类水平分析(图 3),相对丰度较高的为:帚枝霉属(Sarocladium)、鬼笔属(Lysurus)、镰刀属(Fusarium)、赤霉属(Gibberella)、丝盖伞属(Inocybe)、Microidium、大环柄菇属(Lepiota)、微皮伞属(Marasmiellus)、盾盘菌属(Humaria)、Rhytidhysteron。灌木和云杉在属水平上的优势菌群有明显差异,帚枝霉属(Sarocladium 17.86%)、鬼笔属(Lysurus 5.35%)、Microidium(3.18%)是灌丛中的优势菌属;云杉林中相对丰度较高的属有镰刀属(Fusarium 4.41%)、赤霉属(Gibberella 4.70%)、丝盖伞属(Inocybe 4.56%)。TOP35 在各组之间分布差异明显,其中,W1 中丰度较高的有环柄菇属(Lepiota)、帚枝霉属(Sarocladium)、镰刀属



图 2 不同植被类型土壤真菌 OTU 数量韦恩图 Fig.2 Venn profile of OTU number in different vegetation types

S1:灌丛;S2:云杉林;W1:小叶锦鸡儿根际土;W2:忍冬根际土;W3:绣线菊根际土;W4:小檗根际土;W5:蔷薇根际土;W6:灌木非根际土;W7:阳坡处云杉非根际土;W8:阳坡处云杉根际土;W9:云杉林窗处非根际土;W10:云杉林窗处根际土;W11:阴坡处云杉非根际土;W12:阴 坡处云杉根际土

(Fusarium); W2 中丰度较高的有帚枝霉属(Sarocladium)、环柄菇属(Lepiota)、Microidium、被孢霉属(Mortierella); W3 中丰度较高的有鬼笔属(Lysurus)、帚枝霉属(Sarocladium)、被孢霉属(Mortierella); W4 中丰度较高的有帚枝霉属(Sarocladium)、Microidium、Rhytidhysteron; W5 中丰度较高的有帚枝霉属(Sarocladium)、Articulospora、枝孢属(Hygrocybe)、被孢霉属(Mortierella); W6 中丰度较高的有帚枝霉属(Sarocladium)、Articulospora、枝孢属(Cladosporium); W7 中丰度较高的有微皮伞属(Marasmiellus)、赤霉属(Gibberella)、被孢霉属(Mortierella)、欧 立菌属(Oliveonia); W8 中丰度较高的有丝盖伞属(Inocybe)、拟锁瑚菌属(Clavulinopsis)、帚枝霉属(Sarocladium); W9 中丰度较高的有 经益伞属(Inocybe)、扎锁瑚菌属(Clavulinopsis)、帚枝霉属(Sarocladium)、赤霉菌属(Gibberella)、根霉属(Rhizopus); W11 中丰度较高的有盾盘菌属(Humaria)、被 孢霉属(Mortierella)、单端孢属(Trichothecium); W12 中丰度较高的有丝盖伞属(Inocybe)、单端孢属(Trichothecium)、被孢霉属(Mortierella)、金属可能与云杉的生长有密切的关系。

2.6 不同植被类型土壤真菌群落差异分析

通过β多样性的分析结果,可以看出样品间的群落结构差异是否与生物学分组一致。基于 OTU 水平对 天山植物根际土壤样品进行 UPGMA(图4)和 PCoA(图5),结果表明不同植被类型的真菌群落相似性差异较 大。基于加权的 Unifrace 距离矩阵进行分析,将灌丛(S1)和云杉林(S2)分为两组,其真菌群落多样性差异显 著。根据样品间的相似关系,真菌群落可以分为三组:林窗根际土(W10)的真菌群落组成与其他土样差异较 大,被单独列为一组;小叶锦鸡儿(W1)和阳坡非根际土(W7)的菌群结构相似,林窗的非根际土(W9)和林下



图 3 天山林区土壤真菌群落在分类水平的相对丰度

Fig.3 Communities of gungi in the classification standars of abundance

S1:灌丛;S2:云杉林;W1:小叶锦鸡儿根际土;W2:忍冬根际土;W3:绣线菊根际土;W4:小檗根际土;W5:蔷薇根际土;W6:灌木非根际土;W7:阳坡处云杉非根际土;W8:阳坡处云杉根际土;W9:云杉林窗处非根际土;W10:云杉林窗处根际土;W11:阴坡处云杉非根际土;W12:阴 坡处云杉根际土

的非根际土(W11)群落结构相似,它们与阳坡和阴坡的根际土群落结构也较为靠近;忍冬(W2)、小檗(W4)、 蔷薇(W5)、绣线菊(W3)、灌木的非根际土(W6)被分为一组。基于加权的 PCoA 分析,横纵坐标表示 OTU 水 平真菌群落结构的变异分别为 35.31%和 17.34%,由图 7 可以看出,PC1 维度上可以将灌丛和云杉林两组分 开,即 PC2 是造成云杉和灌木真菌群落产生差异的主成分。在 PC2 维度上,云杉林的非根际土与几种灌木根 际土的距离较近,表明云杉的非根际土与灌木的土壤真菌群落结构较为相似。

2.7 土壤营养元素对真菌群落的影响

将土壤中的10个优势菌属与环境因子进行冗余分析(RDA)可发现(图6),第一轴可以解释所有信息的





S1:灌丛;S2:云杉林;W1:小叶锦鸡儿根际土;W2:忍冬根际土;W3:绣线菊根际土;W4:小檗根际土;W5:蔷薇根际土;W6:灌木非根际土;W7:阳坡处云杉非根际土;W8:阳坡处云杉根际土;W9:云杉林窗处非根际土;W10:云杉林窗处根际土;W11:阴坡处云杉非根际土;W12:阴坡处云杉根际土

29.15%,土壤有机碳、全磷、全氮是影响真菌群落的主要因子,几种土壤理化性质呈正相关关系;第二轴解释率为9.81%,主要影响因子为全钾,总解释率达到38.99%,4种环境因子对优势菌属的影响从到到小为: TOC > TP > TN > TK。帚枝霉属(Sarocladium)、 Rhytidhysteron、鬼笔属(Lysurus)、Microidium、大环柄菇属(Lepiota),与全钾含量成正相关,与全氮、全磷和有机碳含量呈负相关;微皮伞属(Marasmiellus)、丝盖伞属(Inocybe)、盾盘菌属(Humaria)与土壤全氮、全磷、有机碳含量呈正相关,与全钾含量呈负相关;赤霉属(Gibberella)、镰刀属(Fusarium)与土壤全钾、有机碳含量呈正相关,与全氮、全磷和有机碳含量呈负相关。

#### 3 讨论

## 3.1 天山不同植被类型对土壤真菌多样性的影响

植物生长过程中从土壤环境吸收水分和营养物质 的同时也会释放大量分泌物,种类繁多的分泌物影响根 际土壤环境的同时也影响了根际土壤的微生物多样 性<sup>[13]</sup>。植被物种越丰富,其根系分泌物种类越多,同时





# Fig. 5 Pricipal coordinates of fungal comminuty structure of different vegetation types

S1:灌丛;S2:云杉林;W1:小叶锦鸡儿根际土;W2:忍冬根际土; W3:绣线菊根际土;W4:小檗根际土;W5:蔷薇根际土;W6:灌木 非根际土;W7:阳坡处云杉非根际土;W8:阳坡处云杉根际土; W9:云杉林窗处非根际土;W10:云杉林窗处根际土;W11:阴坡处 云杉非根际土;W12:阴坡处云杉根际土

植被凋落物增加促进养分循环,林下土壤微生物多样性指数也就越高<sup>[14-15]</sup>。本文中灌丛的 OTU 数量、物种数 目、真菌的多样性和丰富度都多于云杉林,可能是因为几种灌木混杂生长,林下植被多样性要高于纯林的云杉 且凋落物种类更为丰富,土壤微生物生存环境较好,微生物存活率较高<sup>[16]</sup>。云杉作为针叶树种,凋落物中所 含诸如木质素、丹宁以及树脂等有机组分不容易被分解,土壤微生物生长繁殖所需的有效可利用底物十分缺 乏,这些不利条件将进一步限制云杉土壤微生物的生长和繁殖<sup>[17]</sup>。与其他研究相同<sup>[18]</sup>,与灌木相反云杉根



图 6 优势菌属与土壤营养元素的冗余分析 Fig.6 Redundant analysis of dominant fungi and soil nutrients

TOC:土壤总有机碳 Total Organic Carbon;TN:土壤全 N Total Nitrogen;TP:土壤全 P Total Phosphorus;TK:土壤全 K Total Potassium

际土中真菌的多样性和丰富度都低于非根际土且阴坡较高,阳坡次之,林窗最低;阴坡比阳坡更适宜云杉的生 长,云杉林下、林窗很少有植物生长,被认为可能是由于根系分泌一些化感物质抑制了其他植物的生长,这些 化感物质同时也会对云杉的种子萌发和早期幼苗的定居产生影响。几种灌木的土壤真菌群落多样性之间有 一定的差异,但差异较小;云杉中除了林窗根际土,其他土样间真菌群落多样性差异较小,微生物群落呈现出 高度的局域生物多样性。云杉的非根际土与灌木根际土的土壤真菌群落结构较为相似,与孙棋棋等人发现真 菌群落在同地区林草地间无显著差异相似<sup>[19]</sup>,可能是因为真菌群落具有一定的内稳态。而云杉的根际土和 灌木的根际土相比真菌群落差异较大且多样性较少,可能是由于云杉根际富集了特定的真菌群落,且对其他 土壤真菌有一定程度的抑制作用。

## 3.2 天山不同植被类型对土壤真菌群落结构的影响

在森林土壤中,50%—70%的腐殖质来源于根或者与根相关的微生物<sup>[20]</sup>,根际微生物可影响植物对养分的获取,进而影响植物对生物和非生物胁迫的响应策略以及植物的生产力和多样性<sup>[2,21]</sup>,同时植被类型也显著影响微生物群落的碳源利用能力、群落组成及其活性<sup>[22-23]</sup>。菌根共生体是自然生态系统中十分重要的生命有机体,陆生维管植物中只有8%为非菌根植物,云杉为天山北坡单一树种,是外生菌根依赖型树种<sup>[24]</sup>,灌木大多数则为丛植菌根型。外生菌根主要隶属于担子囊菌门(Basidiomycota)、子囊菌门(Ascomycota)和接合菌门(Zygomycota)、以担子囊菌最多;丛植菌根隶属于球囊菌门(Glomeromycota)。本文检测到的丰度较高的5 门真菌群落分别为子囊菌门(Ascomycota)、担子囊菌门(Basidiomycota)、接合菌门(Zygomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)和球囊菌门(Glomeromycota)。辽东山区的红松人工林中,子囊菌门与担子囊菌门占比达25.16%和63.51%<sup>[24]</sup>;青藏高原冻土区垂直剖面中子囊菌门与担子菌门组成比例分别为75.3%和24.7%<sup>[25]</sup>;与呼伦贝尔针茅草原土壤真菌群落结构等以上研究相同<sup>[26]</sup>,天山植被中子囊菌门与担子囊菌门是绝对的优势菌群。它们在土壤养分循环中起着重要作用<sup>[27]</sup>,能够降解木质素和角质素等难分解的物质,担子囊菌主要降解木质素且受植被类型的影响程度较大<sup>[28-29]</sup>。灌木与云杉在门水平上群落组成差异不大,但丰度存在一定的差异,这与张俊忠等<sup>[30]</sup>对于东祁连山高寒草地4种不同草地类型土壤真菌群落研究中得出的结论一致。

寄主植物和环境因子对土壤真菌群落有明显影响,土壤理化指标对真菌群落结构的影响中表明,有机碳和全磷对真菌群落结构的影响较为明显,微皮伞属(Marasmiellus)、丝盖伞属(Inocybe)、盾盘菌属(Humaria)赤

霉属(Gibberella)、镰刀属(Fusarium)与有机碳含量呈正相关。天山雪岭云杉林中相对丰度较高的属有镰刀属(Fusarium)、赤霉属(Gibberella)、丝盖伞属(Inocybe);灌丛中相对丰度较高的有帚枝霉属(Sarocladium)、鬼笔属(Lysurus)、Microidium;灌丛和云杉林共有的所占比例较多属为赤霉属(Gibberella)、镰刀属(Fusarium)和微皮伞属(Marasmiellus)。镰刀属丰度最高,但一些菌种是主要致病菌<sup>[31]</sup>。许多镰刀属可以分泌聚酮(polyketides),类萜(terpenoids)和非核糖体肽(nonribosomal peptides)等特定的植物毒性代谢物或其他生物活性代谢物<sup>[32-33]</sup>,产生如小麦赤霉病、水稻恶苗病、马铃薯块茎干腐病和松树溃疡病等极具破坏性的病害<sup>[34]</sup>,也有一些镰刀菌能产生赤霉素和纤维素酶等物质促进植物生长<sup>[13]</sup>。丝盖伞属在云杉中丰度较高,是常见的外生菌根,可以与植物形成菌根,促进营养元素吸收,提高植物的抗逆性<sup>[35]</sup>。被孢霉属可以抑制一些致病菌,在一定程度上还能缓解土壤负面状态对土壤酶活性和作物生长的影响,是一种具有潜在生物防治意义的真菌,有研究发现其可能是内生真菌的常见类群<sup>[36]</sup>,根际土壤中被孢霉属的相对丰度可用来推测根际抵抗根腐病的能力的强弱<sup>[37-38]</sup>。研究中的菌根真菌较少而某些致病菌占优势,这些菌株可能限制了菌根真菌对植物的侵染,使幼苗难以定殖,从而导致天山云杉的更新问题。丝盖伞属为云杉的优势外生菌根菌属,可为天山雪岭云杉森林的菌根化育苗提供帮助。

#### 4 结论

天山不同植被类型土壤真菌群落中灌木土壤真菌多样性高于云杉,但多样性无显著差异。土壤有机碳和 全磷对土壤真菌群落结构影响最大。丝盖伞属、被孢霉属、赤霉属和镰刀属在土壤真菌中丰度较大为优势 菌属。

#### 参考文献(References):

- [1] 张文婷,来航线,王延平,张海,杨婷,吕家珑.黄土高原不同植被坡地土壤微生物区系特征.生态学报,2008,28(9):4228-4234.
- [2] Anderson I C, Campbell C D, Prosser J I. Potential bias of fungal 18S rDNA and internal transcribed spacer polymerase chain reaction primers for estimating fungal biodiversity in soil. Environmental Microbiology, 2003, 5(1): 36-47.
- [3] Van Der Heijden M G, De Bruin S, Luckerhoff L, Van Logtestijn R S, Schlaeppi K. A widespread plant-fungal-bacterial symbiosis promotes plant biodiversity, plant nutrition and seedling recruitment. The ISME Journal, 2016, 10(2): 389-399.
- [4] Tedersoo L, Bahram M, Dickie I A. Does host plant richness explain diversity of ectomycorrhizal fungi? Re-evaluation of Gao et al. (2013) data sets reveals sampling effects. Molecular Ecology, 2014, 23(5): 992-995.
- [5] 刘安榕,杨腾,徐炜,上官子健,王金洲,刘慧颖,时玉,褚海燕,贺金生.青藏高原高寒草地地下生物多样性:进展、问题与展望.生物 多样性,2018,26(9):972-987.
- [6] Costa R, Götz M, Mrotzek N, Lottmann J, Berg G, Smalla K. Effects of site and plant species on rhizosphere community structure as revealed by molecular analysis of microbial guilds. FEMS Microbiology Ecology, 2006, 56(2): 236-249.
- [7] 周庆伍,曹润洁,何宏魁,汤有宏,刘国英,李安军.现代分子生物学技术对白酒酿造微生物的研究进展.酿酒科技,2017,(6):95-102.
- [8] Caporaso J G, Lauber C L, Walters W A, Berg-Lyons D, Huntley J, Fierer N, Owens S M, Betley J, Fraser L, Bauer M, Gormley N, Gilbert J A, Smith G, Knight R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. The ISME Journal, 2012, 6(8): 1624-1624.
- [9] 王卫.从天山林区资源分布看林区经济可持续发展.水土保持应用技术, 2009, (5): 18-20.
- [10] 孙雪娇, 常顺利, 张毓涛, 宋成程, 韩燕梁, 芦建江, 李翔. 矿区道路两侧雪岭云杉叶片重金属富集效应. 生态学报, 2018, 38(9): 3155-3164.
- [11] 李翾然, 常顺利, 张毓涛. 天山雪岭云杉林粗木质残体储量特征. 生态学报, 2019, 39(10): 3730-3739.
- [12] 谢锦, 常顺利, 张毓涛, 王慧杰, 宋成程, 何平, 孙雪娇. 天山北坡植物土壤生态化学计量特征的垂直地带性. 生态学报, 2016, 36(14): 4363-4372.
- [13] 袁仁文,刘琳,张蕊,范淑英.植物根际分泌物与土壤微生物互作关系的机制研究进展.中国农学通报,2020,36(2):26-35.
- [14] Coroi M, Skeffington M S, Giller P, Smith C, Gormally M, O'Donovan G. Vegetation diversity and stand structure in streamside forests in the south of Ireland. Forest Ecology and Management, 2004, 202(1/3): 39-57.
- [15] 王静娅,王明亮,张凤华.干旱区典型盐生植物群落下土壤微生物群落特征.生态学报,2016,36(8):2363-2372.

- [16] 赵晶晶,牛晓燕,程宇琪,杜浩,王雨晴,张成福.我国森林凋落物分解研究进展.内蒙古林业科技,2017,43(3):43-46.
- [17] 叶充, 胡庭兴, 黄从德, 蔡仕珍. 我国人工林地力衰退与维护研究. 四川林业科技, 2005, 26(4): 50-55.
- [18] 李慧,姚庆智,张星,铁英.褐环乳牛肝菌对樟子松和油松根际土壤真菌多样性的影响.菌物学报,2019,38(7):1071-1081.
- [19] 孙棋棋. 侵蚀环境中土壤微生物群落变化特征[D]. 咸阳: 中国科学院大学(中国科学院教育部水土保持与生态环境研究中心), 2018.
- [20] Clemmensen K E, Bahr A, Ovaskainen O, Dahlberg A, Ekblad A, Wallander H, Stenlid J, Finlay R D, Wardle D A, Lindahl B D. Roots and associated fungi drive long-term carbon sequestration in boreal forest. Science, 2013, 339(6127): 1615-1618.
- [21] Haney C H, Samuel B S, Bush J, Ausubel F M. Associations with rhizosphere bacteria can confer an adaptive advantage to plants. Nature Plants, 2015, 1(6): 15051.
- [22] 张超,刘国彬,薛萐,王国梁.黄土丘陵区不同植被类型根际微生物群落功能多样性研究.草地学报,2015,23(4):710-717.
- [23] 王浩,方燕,刘润进,陈应龙.丛枝菌根中养分转运、代谢、利用与调控研究的最新进展.植物生理学报,2018,54(11):1645-1658.
- [24] 邓娇娇,周永斌,殷有,白雪娇,高慧淋,朱文旭.辽东山区两种针叶人工林土壤真菌群落结构特征.北京林业大学学报,2019,41(9): 130-138.
- [25] 王艳发,魏士平,崔鸿鹏,苏新,祝有海,卢振权,胡非,李来鹏,张帅,刘晖.青藏高原冻土区土壤垂直剖面中微生物的分布与多样性. 微生物学通报,2016,43(9):1902-1917.
- [26] 李刚,范宝莉,文都日乐,杨殿林.呼伦贝尔针茅草原土壤真菌群落结构分析.土壤学报,2011,48(5):1096-1102.
- [27] Beimforde C, Feldberg K, Nylinder S, Rikkinen J, Tuovila H, Dörfelt H, Gube M, Jackson D J, Reitner J, Seyfullah L J, Schmidt A R. Estimating the phanerozoic history of the ascomycota lineages: combining fossil and molecular data. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2014, 78: 386-398.
- [28] Bardgett R D, McAlister E. The measurement of soil fungal: bacterial biomass ratios as an indicator of ecosystem self-regulation in temperate meadow grasslands. Biology and Fertility of Soils, 1999,29(3): 282-290.
- [29] Bossuyt H, Denef K, Six J, Frey S D, Merckx R, Paustian K. Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. Applied Soil Ecology, 2001, 16(3): 195-208.
- [30] 张俊忠,陈秀蓉,杨成德,薛莉.东祁连山高寒草地土壤可培养真菌多样性分析.草业学报,2010,19(2):124-132.
- [31] Beccari G, Covarelli L, Nicholson P. Infection processes and soft wheat response to root rot and crown rot caused by *Fusarium culmorum*. Plant Pathology, 2011, 60(4): 671-684.
- [32] 崔云凤,黄云,蒋伶活.农业生产上几种重要的赤霉属真菌研究进展.中国农学通报,2007,23(7):441-446.
- [33] Desjardins A E, Proctor R H. Molecular biology of Fusarium mycotoxins. International Journal of Food Microbiology, 2007, 119(1/2): 47-50.
- [34] Nandhini M, Rajini S B, Udayashankar A C, Niranjana S R, Lund O S, Shetty H S, Prakash H S. Diversity, plant growth promoting and downy mildew disease suppression potential of cultivable endophytic fungal communities associated with pearl millet. Biological Control, 2018, 127: 127-138.
- [35] Schüßler A. Molecular phylogeny, taxonomy, and evolution of *Geosiphon pyriformis* and arbuscular mycorrhizal fungi. Plant and Soil, 2002, 244(1/2): 75-83.
- [36] 袁志林, 潘雪玉, 靳微. 林木共生菌系统及其作用机制——以杨树为例. 生态学报, 2019, 39(1): 381-397.
- [37] Edgington S, Thompson E, Moore D, Hughes K A, Bridge P. Investigating the insecticidal potential of *Geomyces* (Myxotrichaceae: Helotiales) and *Mortierella* (Mortierellacea: Mortierellales) isolated from Antarctica. SpringerPlus, 2014, 3(1): 289.
- [38] 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.