

DOI: 10.5846/stxb202007071760

杨寅, 邱钰明, 王中斌, 汪海霞, 曲来叶. 重度火烧迹地兴安落叶松 (*Larix gmelinii*) 根际土壤真菌群落研究. 生态学报, 2021, 41(23): 9399-9409.

Yang Y, Qiu Y M, Wang Z B, Wang H X, Qu L Y. The fungal community characteristics of rhizosphere soil of *Larix gmelinii* in different growth status after severe fire. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(23): 9399-9409.

重度火烧迹地兴安落叶松 (*Larix gmelinii*) 根际土壤真菌群落研究

杨 寅^{1,2}, 邱钰明³, 王中斌¹, 汪海霞⁴, 曲来叶^{1,2,*}

1 中国科学院生态环境研究中心城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085

2 中国科学院大学, 北京 100049

3 北京林业大学, 北京 100083

4 天津市林业调查规划设计院, 天津 300112

摘要:为探究内蒙古根河大兴安岭林区重度火烧迹地不同生长状态的兴安落叶松根际土壤真菌群落特征, 选取火烧枯立木 (BDW)、火烧存活木 (BSW)、未火烧对照木 (CK), 通过磷脂脂肪酸方法分析根际土壤真菌群落生物量变化, 利用高通量测序技术对根际土壤真菌群落组成与功能进行分析, 探讨影响根际土壤真菌群落的主要环境因子。结果表明: (1) 相较于未火烧对照木, 火烧枯立木与火烧存活木根际土壤真菌群落磷脂脂肪酸含量显著降低, 真菌群落 α 多样性显著降低。 β 多样性分析与群落相似性分析结果显示, 火烧枯立木、火烧存活木、未火烧对照木根际土壤真菌群落组成存在显著差异。 (2) 相较于未火烧对照木, 火烧枯立木与火烧存活木根际土壤中担子菌门 (Basidiomycota) 真菌相对丰度显著下降, 子囊菌门 (Ascomycota) 真菌相对丰度显著升高。子囊菌门 (Ascomycota) 内, 火烧枯立木根际土壤中内生真菌相对丰度显著高于火烧存活木与未火烧对照木, 而火烧存活木根际土壤中腐生-外生菌根复合型真菌相对丰度显著高于火烧枯立木与未火烧对照木。 (3) 根际土壤总磷、总钾含量是影响重度火烧迹地兴安落叶松根际土壤真菌群落优势菌门由担子菌门 (Basidiomycota) 转变为子囊菌门 (Ascomycota) 的主要环境因子, 而根际土壤总碳、总氮、总磷含量则是造成火烧枯立木与火烧存活木根际土壤真菌群落组成与功能差异的主要环境因子。本研究有助于了解大兴安岭林区土壤真菌群落结构, 对真菌群落多样性的维持与管理具有参考价值。

关键词: 兴安落叶松; 根际土壤真菌群落; 重度火烧; 磷脂脂肪酸; 高通量测序

The fungal community characteristics of rhizosphere soil of *Larix gmelinii* in different growth status after severe fire

YANG Yin^{1,2}, QIU Yuming³, WANG Zhongbin¹, WANG Haixia⁴, QU Laiye^{1,2,*}

1 State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3 Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

4 Tianjin Forestry Investigation Planning and Design Institute, Tianjin 300112, China

Abstract: Fire is an important disturbance factor in forest. The severe fire will significantly change the structure and succession process of forest ecosystem. As an important component of soil microorganisms, fungi respond quickly to fire disturbance and are very sensitive to changes in soil physicochemical properties. The composition and function of fungal communities are important biological indicators for restoration after severe fire. When plants are disturbed by fire, the fungal

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFC0504003); 城市与区域生态国家重点实验室项目 (SKLURE2017)

收稿日期: 2020-07-07; 网络出版日期: 2021-07-23

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lyqu@rcees.ac.cn

community are also affected. In the case of severe fire, such a correlation will persist for a long time. The Great Xing'an Mountain forest ecosystem is of great strategic significance to China, and is also the area of frequent forest fires. *L. gmelinii* is the main zonal vegetation in this area. The restoration of *L. gmelinii* is of great importance to the restoration of forest ecosystem after fire. The relationship between the growth status of *L. gmelinii* and rhizosphere soil fungal community after severe fire has not been studied. The purpose of this study was to investigate the characteristics of the rhizosphere soil fungal community of *L. gmelinii* in different growth status in the severe burned area of Great Xing'an Mountain, Genhe, the Inner Mongolia Autonomous Region. We investigated the growth status of *L. gmelinii*, selected the burned dry wood (BDW), burned survival wood (BSW) and unburned control wood (CK). We measured the physicochemical properties of rhizosphere soil. The phospholipid fatty acid of rhizosphere soil was sampled and analyzed to understand the change of fungal community biomass, and the composition and function differences of the fungal community were analyzed by high-throughput sequencing. We also discussed the key environmental factors affecting the rhizosphere soil fungal community. Results show that: (1) compared with CK, the content of phospholipid fatty acid and alpha diversity of fungal community in the rhizosphere soil of BDW and BSW were significantly reduced. Beta diversity and community similarity analysis showed that there were significant differences in the rhizosphere soil fungal community between BDW, BSW and CK. (2) The relative content of Basidiomycota decreased significantly and the relative content of Ascomycetes increased significantly in the rhizosphere soil of BDW and BSW compared with those of CK. In Ascomycota, the relative content of endophyte fungi in the rhizosphere soil of BDW was significantly higher than that of BSW and CK, the relative content of saprophytic-ectomycorrhizal compound fungi in the rhizosphere soil of BSW was significantly higher than that of BDW and CK. (3) The contents of total phosphorus and total potassium in rhizosphere soil were the main environmental factors affecting the transformation of the dominant fungi phylum from Basidiomycota to Ascomycota in the rhizosphere soil of *L. gmelinii* after severe burned. The contents of total carbon, total nitrogen, total phosphorus were the main environmental factors that caused the differences in the composition and function of fungi in the rhizosphere soil between BDW and BSW. The study is helpful to understand the structure of soil fungal community in the Great Xing'an Mountain forest ecosystem and has reference value for the maintenance and management of fungal community diversity.

Key Words: *Larix gmelinii*; rhizosphere soil fungal community; severe fire; phospholipid fatty acid; high throughput sequencing

林火是森林中重要的扰动因子,其对森林的影响程度首要取决于火烧严重程度^[1],重度火烧会显著地改变森林生态系统的结构以及演替过程^[2]。土壤微生物在森林生态系统的物质循环和能量流动过程中发挥着重要作用^[3],真菌作为土壤微生物的重要组成成分,对火烧干扰的响应迅速^[4],对土壤理化性质的改变十分敏感,真菌群落的组成与功能是火烧干扰后土壤恢复的重要生物指标^[5]。真菌能与植物根系形成菌根真菌促进植物氮、磷元素的吸收^[6],又可作为分解者加快土壤中植物可吸收养分的释放^[7],也可成为病原体阻碍植物的生长发育^[8]。同时,植物的养分运输也直接影响菌根真菌,植物凋落物的质量和数量也会对腐生真菌产生间接影响。因此,当植物受到火烧扰动时,真菌群落的组成与功能也会受到相应的影响^[9],植物与真菌之间的反馈使得二者的变化存在显著的相关性^[10],在火烧程度严重的情况下这种相关性会长期存在^[11]。此外,植物主要通过根际分泌物影响真菌群落^[12],根际与非根际土壤真菌群落存在显著差异。因此,基于根际土壤的研究将更为准确地反映火烧干扰后植物与真菌群落变化的相关性。

大兴安岭林区是森林火灾的频发区,也是我国森林火烧程度最严重的林区之一。兴安落叶松(*Larix gmelinii*)为松科(Pinaceae)落叶松属(*Larix*)乔木,其耐寒耐瘠薄,木材蓄积丰富,是该林区荒山造林和森林更新的主要树种^[13]。重度火烧迹地兴安落叶松的生长和恢复是大兴安岭森林生态系统恢复的关键,对我国林业生产具有重要战略意义^[14]。国内对火烧迹地兴安落叶松土壤真菌群落具有一定的研究基础,张敏等通过

稀释平板法研究了火烧迹地兴安落叶松土壤真菌数量的变化趋势^[15],彭瑶等利用磷脂脂肪酸方法探讨了火烧迹地兴安落叶松土壤真菌与细菌相对含量的变化特征^[16];张虹通过变性梯度凝胶电泳法研究发现不同火烧程度和不同恢复年限的兴安落叶松林土壤真菌群落结构均存在显著差异^[17]。但是,以上研究均以火烧迹地的非根际土壤为研究对象,且对于重度火烧后兴安落叶松生长状态与根际土壤真菌群落组成与功能相关性的研究尚未涉及。近年来,高通量测序技术的发展以及 FUNGuild 工具^[18-19]的开发极大地推进了真菌群落组成与功能的深入研究,为重度火烧迹地兴安落叶松生长状态与根际土壤真菌群落组成与功能相关性的研究奠定了基础。

综上所述,本研究在内蒙古根河大兴安岭林区重度火烧迹地中选取两种火烧后生长状态差异显著的兴安落叶松(火烧枯立木和火烧存活木)为研究对象,以未火烧样地中的兴安落叶松作为对照(未火烧对照木),利用磷脂脂肪酸方法分析了根际土壤真菌群落生物量的变化特征,并通过高通量测序手段探讨了根际土壤真菌群落组成与功能变化,探究重度火烧后兴安落叶松生长状态与根际土壤真菌群落组成与功能的相关性。旨在解决以下问题:重度火烧迹地兴安落叶松的生长状态如何影响根际土壤真菌群落组成与功能?本研究将为重度火烧迹地兴安落叶松的恢复与管理提供科学参考和决策依据。

1 研究方法

1.1 研究区概况

本研究于 2018 年 7 月选取内蒙古根河林业区 2015 年重度火烧(烧死木占蓄积量 60%以上)的兴安落叶松林(火烧后自然恢复,无人为干预),以及附近未火烧的兴安落叶松林(对照)为研究区开展调查。研究区地理坐标为 122°25′56.46″—122°26′3.68″E,50°59′22.63″—50°59′26.71″N,海拔 913m。该地区年降水量 450—500mm,年均温-5.4℃。土壤以棕色针叶林土和暗棕壤为主,森林覆盖率高达 75%,主要树种为兴安落叶松(*Larix gmelinii*)、白桦(*Betula platyphylla*)、樟子松(*Pinus sylvestris*)等。

1.2 样地选择与采样

初步调查发现重度火烧迹地内兴安落叶松的生长状态由着火点向外大致以同心圆形状呈阶梯分布。将其中树皮脱落超过 50%且树枝没有当年生针叶的兴安落叶松标记为火烧枯立木(Burned dry wood, BDW);将树皮有轻微脱落(<20%)但树枝有当年生针叶的兴安落叶松标记为火烧存活木(Burned survival wood, BSW)。在重度火烧迹地内,根据兴安落叶松的生长状态,设置两个 20m×20m 的样方:第一个样方距离火场中心较近(100m 以内),样方内兴安落叶松多为火烧枯立木;第二个样方距离火场中心较远(100m 以外),样方内兴安落叶松多为火烧存活木。同时,在未火烧的对照样地中设置 20m×20m 的对照样方。在第一个样方内选取火烧枯立木 9 棵,在第二个样方内选取火烧存活木 9 棵,在对照样方内选取 9 棵生长状态良好的未火烧对照木。综上,共选取 27 棵兴安落叶松,其胸径基本一致。

对 27 棵兴安落叶松的根际土壤(0—10cm)进行采集。采样前,先扫去土壤表面的枯枝落叶等杂物,用铁锹挖土找到兴安落叶松的树根,用手抖落根际土。在每棵兴安落叶松根部四个方向取土,并混合为一个土样,作为该兴安落叶松的根际土壤样品。新鲜土壤过 2mm 筛后放于 4℃冰盒里短暂保存,带回实验室。取部分新鲜土样保存于-20℃冰箱中用于磷脂脂肪酸(Phospholipid fatty acid, PLFA)、土壤 DNA 的提取,另一部分土样用于根际土壤理化性质的测定。

1.3 根际土壤理化性质与磷脂脂肪酸测定

土壤理化性质测定方法^[20]:土壤含水量采用铝盒烘干法测定,土壤 pH 值采用酸度计(土水比 1:5)测定,土壤总碳、总氮含量采用元素分析仪测定,土壤总磷、总钾含量采用微波消解 ICP-OES 法测定,土壤速效磷含量采用碳酸氢钠法提取并用紫外分光光度计测定,土壤速效氮含量采用碱解扩散法测定。

土壤磷脂脂肪酸测定方法^[21]:(1)提取:取 4g 冻干土(过 100 目筛)加 3.6mL 磷酸缓冲液、8mL 甲醇、4mL 氯仿,超声波 10min,震荡 1—2h,2500rpm/min 离心 10min。上清液加 4mL 氯仿、3.6mL 磷酸缓冲液,混匀,分

层过夜(避光),收集下层氯仿相,氮气吹干。(2)分离:用氯仿分两次洗涤转移吹干的样品,用氯仿润湿硅胶柱。加 15mL 丙酮过硅胶柱、加 10mL 甲醇(色谱纯)过硅胶柱,收集甲醇相,氮气吹干。(3)甲酯化:用甲醇-甲苯(1:1, v/v)溶液溶解吹干的脂类物质,加 1mL 氢氧化钾(甲醇作溶剂, 0.2mol/L),混匀, 37℃ 温水浴 15min。冷却至室温,加 2mL 氯仿-正己烷(1:4, v/v)、0.3mL 醋酸(1mol/L)、2mL 超纯水,混匀, 2000rpm/min 离心 5min,收集上层正己烷相。加 2mL 氯仿-正己烷(1:4, v/v)重复提取一次,合并两次提取的正己烷相,氮气吹干, -20℃ 保存。(4)上机测定:用 19C 做内标,通过气相色谱仪得到磷脂脂肪酸特征图谱,根据内标计算含量,单位用 nmol/g 表示。根据已发表文献中的磷脂脂肪酸标记物^[22-23],对真菌(18:2 ω 6c, 18:1 ω 9c)的磷脂脂肪酸含量进行表征。

1.4 根际土壤 DNA 提取、真菌 ITS 基因扩增及测序

对兴安落叶松根际土壤进行冷冻干燥和过 100 目筛处理,采用 Qiagen 土壤 DNA 提取试剂盒(DNeasy Power Soil Kit)对兴安落叶松根际土壤进行 DNA 抽提。将提取好的 DNA 送至上海美吉生物公司进行真菌片段 PCR 扩增和纯化,真菌 ITS 引物为^[24]: ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')。PCR 产物大小在 300—500bp 之间, Illumina 测序。

1.5 生物信息学分析及数据处理

采用 Qiime2 软件(qiime2 2019.1)对测序原始数据进行生物信息分析:利用 DADA2 对下机数据进行质控^[25],生成 OTU 表和代表性序列,过滤掉在 Illumina 测序数据中用于提高扩增子测序质量的任何 phiX 序列,同时过滤嵌合体序列。将测序得到的序列进行随机抽样标准化,不同处理样品的稀释曲线均趋于平缓, OTU 数目趋于饱和,能够准确反应真菌群落特征。将重抽样标准化后的 OTU 表转化为相对丰度,从 Unite 中下载真菌数据库 sh_refs_qiime_ver8_dynamic_02.02.2019 用于比对,在 Qiime2 中训练 Naive Bayes 分类器,进而对各个 OTU 进行物种注释并分级汇总可视化。利用 Qiime2 计算 α 多样性指数^[26](Chao1 指数、Pielou 均匀度指数、香农多样性指数)。使用 R 语言 vegan 包进行基于 Weighted-Unifrac 距离的主坐标分析(Principal coordinates analysis, PCoA)比较各样地真菌群落的 β 多样性并进行群落相似性分析(Analysis of similarities, ANOSIM)^[27]。通过 LEfSe(LDA Effect Size)分析寻找组间差异物种(LDA 阈值为 4.0)^[28],使用 FUNGuild 对真菌群落进行营养方式(Trophic mode)与功能群(Guild)划分^[18-19]。使用 SPSS24.0 对根际土壤理化性质、磷脂脂肪酸、真菌群落多样性指数、组成与功能进行单因素方差分析,用 LSD 方法比较不同组之间的差异。使用 R 语言 vegan 包进行冗余分析(Redundancy analysis, RDA)探讨影响根际土壤真菌菌门相对丰度的主要环境因子^[27],通过 Pearson 相关性分析真菌菌属相对丰度与土壤理化性质的相关性。所有制图通过 Origin 9.1、R 3.5.1 版本完成。

2 结果与分析

2.1 火烧后不同生长状态的兴安落叶松根际土壤理化性质与真菌磷脂脂肪酸含量

根际土壤理化性质如表 1 所示,火烧枯立木与火烧存活木根际土壤总磷含量显著高于未火烧对照木($P < 0.05$),但火烧枯立木与火烧存活木根际土壤总磷含量差异没有达到显著水平。火烧枯立木根际土壤速效磷含量显著高于未火烧对照木($P < 0.05$),总钾含量显著低于未火烧对照木($P < 0.05$),而火烧存活木速效磷、总钾含量与未火烧对照木均不存在显著差异。此外,火烧枯立木与火烧存活木的土壤 pH、含水量、总碳、总氮、速效氮含量与未火烧对照木均不存在显著差异。

根际土壤真菌磷脂脂肪酸含量如图 1 所示。相较于未火烧对照木,火烧枯立木与火烧存活木根际土壤真菌磷脂脂肪酸含量显著降低($P < 0.05$),且火烧枯立木根际土壤真菌磷脂脂肪酸含量显著低于火烧存活木($P < 0.05$)。

表 1 火烧后不同生长状态的兴安落叶松根际土壤理化性质

Table 1 Physicochemical properties of rhizosphere soil of *Larix gmelinii* in different growth status after fire

生长状态 Growth status	酸碱度 pH	含水量 SM/%	总碳 TC/ (g/kg)	总氮 TN/ (g/kg)	速效氮 AN/ (mg/kg)	总磷 TP/ (g/kg)	速效磷 AP/ (mg/kg)	总钾 TK/ (g/kg)
火烧枯立木 BDW	4.54±0.08a	32.96±0.03a	64.41±7.55a	2.56±0.24a	98.78±11.03a	0.66±0.75a	4.92±0.63a	20.59±0.71b
火烧存活木 BSW	4.63±0.21a	29.33±0.03a	60.55±13.10a	2.52±0.44a	117.00±13.84a	0.76±0.10a	3.56±0.15b	22.20±0.71ab
未火烧对照木 CK	4.63±0.14a	30.08±0.02a	45.71±6.93a	1.98±0.27a	92.56±16.41a	0.41±0.03b	2.74±0.12b	24.67±1.48a

BDW:火烧枯立木 Burned dry wood;BSW:火烧存活木 Burned survival wood;CK:未火烧对照木;表中数值为平均值±标准误差,字母不同代表处理间差异显著($P<0.05$)

2.2 火烧后不同生长状态的兴安落叶松根际土壤真菌群落多样性分析

根际土壤真菌群落的 α 多样性如表2所示。相较于未火烧对照木,火烧枯立木与火烧存活木根际土壤真菌群落 Chao1 指数显著降低($P<0.05$),但 Pielou 均匀度没有发生显著变化。火烧存活木的香农多样性指数显著低于未火烧对照木($P<0.05$),而火烧枯立木的香农多样性指数没有发生显著变化。

真菌群落 β 多样性的主坐标分析结果如图2所示。前两个排序轴的解释率分别为38.28%与17.92%。其中,未火烧对照木聚集在第一排序轴的正半轴,而火烧枯立木与火烧存活木聚集在第一排序轴的负半轴。同时,火烧枯立木聚集在第二排序轴的负半轴,而火烧存活木在第二排序轴的正负半轴均有聚集。真菌群落的相似性分析(ANOSIM)结果显示,火烧枯立木、火烧存活木、未火烧对照木根际土壤真菌群落存在极显著差异($P<0.001$)。

2.3 火烧后不同生长状态的兴安落叶松根际土壤真菌群落组成及功能差异

从重度火烧后不同生长状态的兴安落叶松根际土壤测序样品中共划分出2230个真菌 OTU,隶属8门21

纲50目87科146属。真菌群落门水平的相对丰度如表3所示,未火烧对照木根际土壤中担子菌门(Basidiomycota)为优势菌门(相对丰度60%)。相较于未火烧对照木,火烧枯立木与火烧存活木根际土壤中担子菌门(Basidiomycota)相对丰度显著降低($P<0.05$),优势菌门转变为子囊菌门(Ascomycota),相对丰度显著升高($P<0.05$)。火烧枯立木与火烧存活木各真菌菌门的相对丰度不存在显著差异。

表 2 火烧后不同生长状态的兴安落叶松根际土壤真菌群落 α 多样性Table 2 Alpha diversity of fungal communities in rhizosphere soil of *Larix gmelinii* in different growth status after fire

生长状态 Growth status	Chao1 指数 Chao1 index	Pielou 均匀度 Pielou evenness	香农多样性指数 Shannon-Weiner index
火烧枯立木 BDW	124.67±4.73b	0.61±0.03a	4.06±0.16ab
火烧存活木 BSW	102.20±8.53c	0.54±0.02a	3.62±0.18b
未火烧对照木 CK	153.96±5.21a	0.59±0.02a	4.33±0.20a

表中数值为平均值±标准误差,字母不同代表处理间差异显著($P<0.05$)

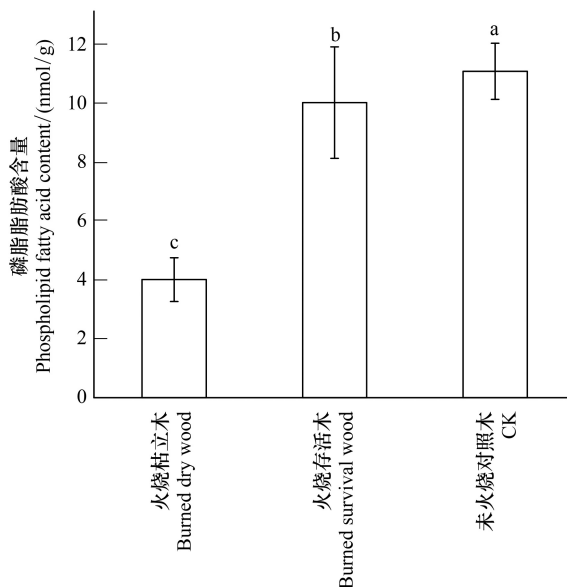


图 1 火烧后不同生长状态的兴安落叶松根际土壤真菌磷脂脂肪酸含量

Fig.1 Fungi PLFA contents in rhizosphere soil of *Larix gmelinii* in different growth status after fire

字母不同代表处理间差异显著($P<0.05$)

LEfSe 分析结果及系统发育树如图3所示,在LDA阈值为4.0的显著差异条件下,火烧枯立木、火烧存活

木、未火烧对照木从纲到属存在显著差异的真菌类群有 21 个,其中属分类水平上有 10 个。将存在显著差异的真菌菌属进行营养方式 (Trophic mode) 与功能群 (Guild) 划分,结果如表 4 所示。未火烧对照木根际土壤中真菌主要营养方式为共生型,担子菌门 (Basidiomycota) 的蜡伞属 (*Hygrophorus*)、红菇属 (*Russula*)、丝膜菌属 (*Cortinarius*) 均为外生菌根真菌,相对丰度显著高于火烧枯立木与火烧存活木 ($P<0.05$)。火烧枯立木根际土壤中真菌主要营养方式为共生型以及病原-腐生-共生复合型。其中,子囊菌门 (Ascomycota) 的 *Leptodontidium* 属、*Phialocephala* 属为内生真菌, *Coniochaeta* 属为子囊菌门 (Ascomycota) 的动物病原-粪腐生-内生复合功能真菌,这三个菌属的相对丰度均显著高于火烧存活木与未火烧对照木 ($P<0.05$)。火烧存活木根际土壤中真菌主要营养方式为共生型以及腐生-共生复合营养方式。其中,子囊菌门 (Ascomycota) 的长毛盘菌属 (*Trichophaea*) 为粪腐生-外生菌根复合功能真菌, *Calypotrozyna* 属为木质腐生-外生菌根复合功能真菌,这两个菌属的相对丰度显著高于火烧枯立木与未火烧对照木 ($P<0.05$)。

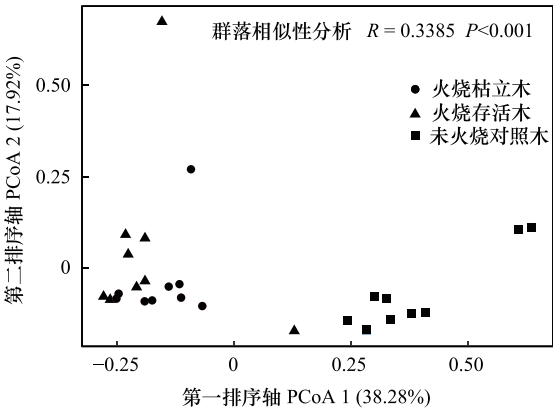


图 2 真菌群落 β 多样性主坐标分析以及群落相似性分析
Fig.2 PCoA of beta diversity and ANOSIM of rhizosphere soil fungal community

表 3 火烧后不同生长状态的兴安落叶松门分类水平下根际土壤真菌群落组成

生长状态 Growth status	子囊菌门 Ascomycota	担子菌门 Basidiomycota	其他门类 Others	尚不能鉴定 Unidentified
火烧枯立木 BDW	0.83±0.09a	0.11±0.04b	0.0032±0.09a	0.05±0.02a
火烧存活木 BSW	0.71±0.03a	0.10±0.01b	0.0033±0.03a	0.18±0.03a
未火烧对照木 CK	0.34±0.08b	0.60±0.09a	0.0031±0.01a	0.06±0.04a

其他门类包括壶菌门 (Chytridiomycota)、梳霉门 (Kickxellomycota)、被孢霉门 (Mortierellomycota)、毛霉门 (Mucoromycota)、隐真门 (Rozellomycota)、捕虫霉门 (Zoopagomycota);表中数值为平均值±标准误差,字母不同代表处理间差异显著 ($P<0.05$)

表 4 火烧后不同生长状态的兴安落叶松根际土壤真菌菌属功能群

属 Genus	营养方式 Trophic mode	功能群 Guild	火烧枯立木 BDW/%	火烧存活木 BSW/%	未火烧对照木 CK/%
<i>Hygrophorus</i>	Symbiotroph	Ectomycorrhizal	0.6±0.01b	0.04±0.01b	33.98±0.18a
<i>Russula</i>	Symbiotroph	Ectomycorrhizal	0.26±0.01b	3.96±0.03b	24.79±0.12a
<i>Cortinarius</i>	Symbiotroph	Ectomycorrhizal	0.02±0.01b	0	5.20±0.03a
<i>Inocybe</i>	Symbiotroph	Ectomycorrhizal	0	0.12±0.01a	0.16±0.01a
<i>Leptodontidium</i>	Symbiotroph	Endophyte	48.18±0.11a	22.01±0.12b	1.06±0.01c
<i>Phialocephala</i>	Symbiotroph	Endophyte	6.05±0.02a	1.16±0.01b	1.56±0.01b
<i>Trichoderma</i>	Saprotroph	Undefined Saprotroph	0.29±0.01a	0.08±0.01a	0.02±0.01a
<i>Trichophaea</i>	Saprotroph-Symbiotroph	Dung Saprotroph-Ectomycorrhizal	0.12±0.01b	19.45±0.13a	1.19±0.01b
<i>Calypotrozyna</i>	Saprotroph-Symbiotroph	Wood Saprotroph-Ectomycorrhizal	6.07±0.01b	11.38±0.05a	0
<i>Coniochaeta</i>	Pathotroph-Saprotroph-Symbiotroph	Animal Pathogen-Dung Saprotroph-Endophyte	6.67±0.01a	1.60±0.01b	1.05±0.01b

Hygrophorus: 蜡伞属; *Russula*: 红菇属; *Cortinarius*: 丝膜菌属; *Inocybe*: 丝伞盖属; *Trichoderma*: 木霉属; *Trichophaea*: 长毛盘菌属; *Coniochaeta*: 锥毛壳属; Symbiotroph: 共生型; Saprotroph: 腐生型; Saprotroph-Symbiotroph: 腐生-共生型; Pathotroph-Saprotroph-Symbiotroph: 病原-腐生-共生型; Ectomycorrhizal: 外生菌根真菌; Endophyte: 内生真菌; Undefined Saprotroph: 未定义腐生真菌; Dung Saprotroph-Ectomycorrhizal: 粪腐生-外生菌根真菌; Wood Saprotroph-Ectomycorrhizal: 木质腐生-外生菌根真菌; Animal Pathogen-Dung Saprotroph-Endophyte: 动物病原-粪腐生-内生真菌;表中数值为平均值±标准误差,字母不同代表处理间差异显著 ($P<0.05$)

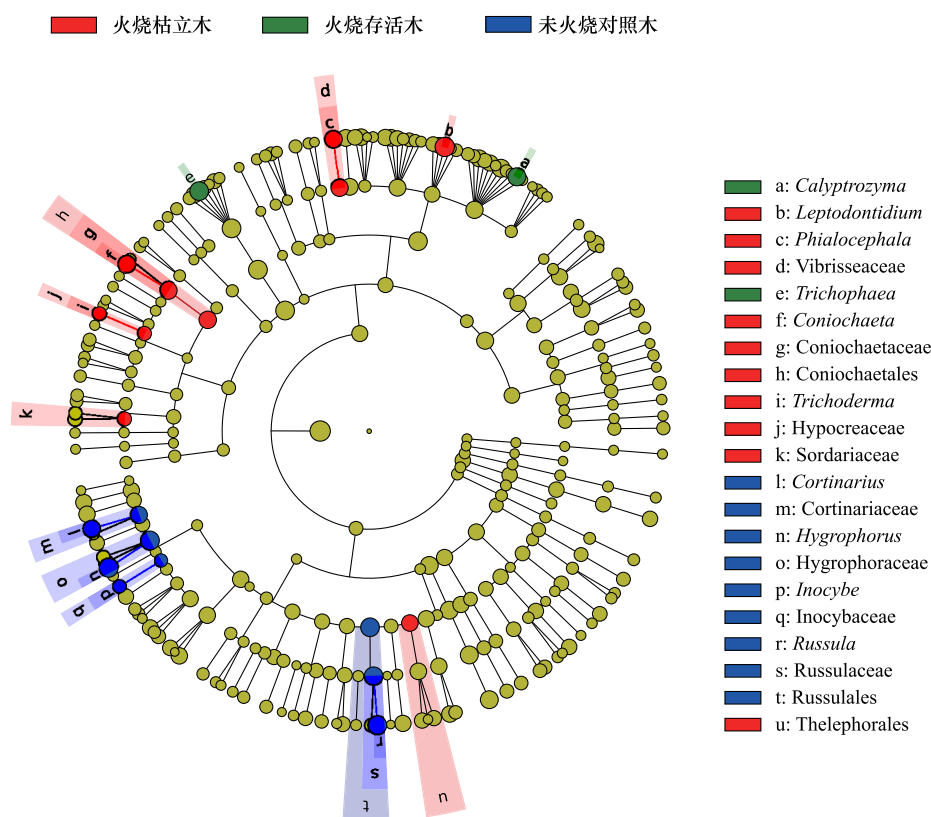


图3 火烧后不同生长状态的兴安落叶松根际土壤真菌线性判别分析结果与系统发育树

Fig.3 LefSe analysis and cladogram of rhizosphere soil fungi of *Larix gmelinii* in different growth status after fire

图中每一个节点代表一个真菌类群, 节点的直径代表相对丰度的大小, 组间相对丰度差异不显著的真菌类群用黄色节点标注, 差异显著的真菌类群跟随组别进行着色; a: *Calyptrozya*; *Calyptrozya* 属; b: *Leptodontidium*; *Leptodontidium* 属; c: *Phialocephala*; *Phialocephala* 属; d: *Vibrissaeaceae*; *Vibrissaeaceae* 科; e: *Trichophaea*; 长毛盘菌属; f: *Coniochaeta*; 锥毛壳属; g: *Coniochaetaceae*; 锥毛壳科; h: *Coniochaetales*; 锥毛壳目; i: *Trichoderma*; 木霉属; j: *Hypocreaceae*; 蜡伞科; k: *Sordariaceae*; 粪壳菌科; l: *Cortinarius*; 丝膜菌属; m: *Cortinariaceae*; 丝膜菌科; n: *Hygrophorus*; 蜡伞属; o: *Hypocreaceae*; 肉座菌科; p: *Inocybe*; 丝伞盖属; q: *Inocybaceae*; 丝伞盖科; r: *Russula*; 红菇属; s: *Russulaceae*; 红菇科; t: *Russulales*; 红菇目; u: *Thelephorales*; 革菌目

2.4 影响兴安落叶松根际土壤真菌群落的环境因子

真菌群落门水平组成与根际土壤理化性质的冗余分析结果如图4所示(仅展示相关性显著的根际土壤理化性质), 前两个排序轴的解解释率分别为44.56%与1.60%。根际土壤总磷与总钾含量是影响真菌群落门水平组成的主要环境因子。其中, 根际土壤总磷含量与子囊菌门(Ascomycota)相对丰度显著正相关($P < 0.05$), 与担子菌门(Basidiomycota)相对丰度显著负相关($P < 0.05$)。根际土壤总钾含量与子囊菌门(Ascomycota)相对丰度显著负相关($P < 0.05$), 与担子菌门(Basidiomycota)相对丰度显著正相关($P < 0.05$)。

为探究造成火烧枯立木与火烧存活木根际土壤真菌群落差异的因素, 对子囊菌门内相对丰度较高且存在显著差异的真菌菌属与根际土壤理化性质进行 Pearson 相关分析, 结果如表5所示。 *Leptodontidium* 属相对丰度与总磷含量显著正相关($P < 0.05$), *Phialocephala* 属相对丰度与总碳、总氮含量显著正相关($P < 0.05$),

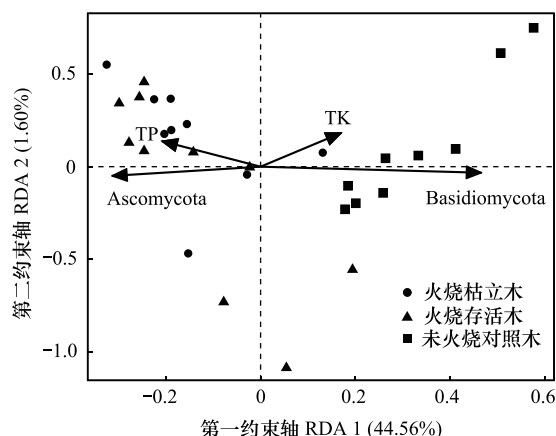


图4 真菌群落组成与土壤理化性质的冗余分析

Fig.4 RDA of fungal communities composition and physicochemical properties of rhizosphere soil

Calypトロzyma 属相对丰度与总碳、总磷含量显著正相关 ($P<0.05$), *Trichophaea* 属、*Coniochaeta* 属相对丰度与根际土壤理化性质不存在显著相关性。

表 5 真菌菌属相对丰度与土壤理化性质的相关系数
Table 5 Correlation coefficients between fungi genus and physicochemical properties of rhizosphere soil

属 Genus	酸碱度 pH	含水量 SM	总碳 TC	总氮 TN	速效氮 AN	总磷 TP	速效磷 AP	总钾 TK
<i>Leptodontidium</i>	-0.147	0.202	0.205	0.183	0.365	0.491 *	0.413	-0.267
<i>Phialocephala</i>	-0.030	0.440	0.580 *	0.527 *	0.004	0.145	0.212	-0.449
<i>Trichophaea</i>	-0.042	0.274	0.356	0.455	0.257	0.213	0.119	-0.375
<i>Calypトロzyma</i>	-0.230	0.014	0.518 *	0.455	0.381	0.495 *	0.098	-0.263
<i>Coniochaeta</i>	0.067	0.374	0.308	0.357	0.117	0.178	0.360	-0.290

表中 * 表示相关性显著, $P<0.05$

3 讨论与结论

3.1 真菌群落磷脂脂肪酸含量与多样性

磷脂脂肪酸含量是反映土壤微生物量大小的指标^[29]。火烧迹地真菌生物量变化的原因可归结为火烧过程中土壤升温对真菌的致死作用^[30]、火烧后土壤水分养分条件的破坏^[31]以及共生植物缺失。本研究中火烧枯立木与火烧存活木根际土壤真菌磷脂脂肪酸含量显著低于未火烧对照木,重度火烧显著降低了兴安落叶松根际土壤真菌群落生物量,与已有重度火烧迹地中真菌生物量变化的研究结果一致^[32]。火烧枯立木真菌磷脂脂肪酸含量显著低于火烧存活木,这可能有以下两方面原因:一是因为重度火烧迹地中土壤升温不均匀导致火烧枯立木与火烧存活木根际土壤真菌生物量损失程度存在差异,二是因为真菌生物量受到兴安落叶松生长状态的影响,火烧存活木生长状态较好,促进了火烧后根际土壤真菌生物量的恢复。Chao1 指数是反映物种丰富度的指标^[33],Pielou 均匀度指数反映物种分布均匀度^[34]。结果显示,火烧枯立木与火烧存活木的 Chao1 指数显著低于未火烧对照木,但 Pielou 均匀度指数与未火烧对照木不存在显著差异,这说明重度火烧降低了兴安落叶松根际土壤真菌群落的物种丰富度但没有对物种分布均匀度产生影响。

3.2 真菌群落组成和功能变化特征以及环境因子影响机制

本研究中兴安落叶松根际土壤真菌门类以子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota)为主,这与已有大兴安岭针叶林土壤真菌群落的研究结果一致^[35]。其中,担子菌门(Basidiomycota)常与植物共生形成菌根^[36],促进植物的养分吸收与生长发育。未火烧对照木根际土壤水分养分条件良好,故其根际土壤真菌群落中担子菌门(Basidiomycota)为优势菌门。子囊菌门(Ascomycota)可以产生胞外酶^[37],更好地降解木质素、纤维素等难分解的物质,对植物残茬和碎屑十分敏感^[38-39],重度火烧后地表枯枝落叶与灰烬大量增加,所以子囊菌门(Ascomycota)在火烧枯立木与火烧存活木根际土壤真菌群落中占据了优势。冗余分析结果表明,重度火烧后根际土壤总磷、总钾含量是影响真菌门类的主要环境因子,有研究表明在富含磷元素的土壤中担子菌门相对丰度较低^[40-41],与本研究结果一致。真菌功能群分析结果表明,未火烧对照木根际土壤中担子菌门(Basidiomycota)的优势菌属多为外生菌根真菌,这类真菌被认为是对火烧敏感的真菌类群^[42],且外生菌根真菌具有宿主植物专一性,火烧后外生菌根真菌群落的变化会受到恢复过程中定植植物的影响^[43]。火烧枯立木与火烧存活木根际土壤中外生菌根真菌相对丰度显著减少,这说明兴安落叶松的生长状态以及土壤环境尚未恢复到适宜外生菌根真菌繁殖的水平。外生菌根真菌是森林生态系统中重要的菌类,它可以扩大兴安落叶松根系吸收营养的面积、增强植物的抗逆性、促进植物生长^[44],可考虑在重度火烧迹地兴安落叶松的恢复过程中接种外生菌根真菌来促进恢复。

火烧枯立木与火烧存活木根际土壤真菌群落中子囊菌门(Ascomycota)的优势菌属相对丰度及其所属功能群存在显著差异:火烧枯立木根际土壤中相对丰度显著增加的 *Leptodontidium* 属、*Phialocephala* 属为内生真菌。其中,*Phialocephala* 属为深色有隔内生真菌,可以在宿主根系定植并抑制致病菌的生长^[45],同时增加植

物生物量^[46],而 *Leptodontidium* 属的生长繁殖特性与 *Phialocephala* 属十分相似^[47-48], Analie 等通过盆栽实验研究发现 *Leptodontidium* 属的寄主植物十分广泛,其与 *Phialocephala* 属的共存可以显著增加植物茎重^[49]。火烧存活木根际土壤中相对丰度显著增加的长毛盘菌属(*Trichophaea*)与 *Calypotrozyma* 属为腐生-共生复合型真菌。其中,长毛盘菌属(*Trichophaea*)属于盘菌目(Pezizales),这一真菌菌目具备一定的适应火烧的特性,如耐高温、火烧后不久会产生大量耐热孢子等^[50],在轻中度火烧迹地中会作为火烧适应型真菌来替代减少的火烧敏感型真菌。火烧存活木根际土壤中相对丰度增加的菌属多为腐生-共生复合营养型真菌,真菌的营养方式与寄主植物生长状态以及土壤环境密切相关,真菌会改变自身的营养方式以维持正常的生理活动^[51],当植物健康生长时为共生型真菌,当植物衰老或死亡时可转变为腐生真菌,这些真菌为应对不同的生存条件而采取了不同的营养策略^[52]。由此可见,火烧枯立木与火烧存活木真菌群落的恢复策略存在差异,火烧枯立木根际土壤真菌群落通过 *Leptodontidium* 属、*Phialocephala* 属这两种内生菌根真菌的共同作用来促进兴安落叶松根系与生物量的恢复,而火烧存活木根际土壤真菌群落对火烧的适应性显著增加,同时通过与兴安落叶松的腐生与共生关系促进其根际土壤物质循环与能量流动。此外,不同于火烧枯立木,火烧存活木根际土壤中病原型真菌相对丰度没有较未火烧对照木显著增加,这说明兴安落叶松良好的生长存活状态对其根际土壤真菌群落中病原型真菌有一定的抑制作用^[53]。相关性分析表明,火烧枯立木与火烧存活木根际土壤中存在显著差异的真菌菌属中,*Leptodontidium* 属、*Phialocephala* 属、*Calypotrozyma* 属相对丰度与根际土壤理化性质(总碳、总氮、总磷含量)存在显著相关性,而 *Trichophaea* 属、*Coniochaeta* 属相对丰度与根际土壤理化性质不存在显著相关性,这说明除环境因子外,火烧后兴安落叶松的不同生长状态也对根际土壤真菌群落属水平上的组成及功能产生了不同的影响,造成了火烧枯立木与火烧存活木根际土壤真菌群落的差异。

综上所述,重度火烧后兴安落叶松根际土壤真菌群落生物量与多样性显著降低,火烧枯立木与火烧存活木的根际土壤真菌群落组成及功能存在显著差异。根际土壤总碳、总氮、总磷、总钾含量是影响真菌群落的主要环境因子。根际土壤真菌群落的变化特征对于兴安落叶松的恢复具有重要的指示意义,应在火烧恢复中引起重视。

参考文献(References):

- [1] Certini G. Effects of fire on properties of forest soils: a review. *Oecologia*, 2005, 143(1): 1-10.
- [2] Keeley J E, van Mantgem P, Falk D A. Fire, climate and changing forests. *Nature Plants*, 2019, 5(8): 774-775.
- [3] 邓玉峰, 田善义, 成艳红, 胡正锬, 刘满强, 胡锋, 陈小云. 模拟氮沉降下施石灰对休耕红壤优势植物根际土壤微生物群落的影响. *土壤学报*, 2019, 56(6): 1449-1458.
- [4] Mataix-Solera J, Guerrero C, García-Orenes F, Bárcenas G M, Torres M P. Forest fire effects on soil microbiology//Cerdà A, ed. *Fire Effects on Soils and Restoration Strategies*. Boca Raton: CRC Press, 2009.
- [5] Pascual J A, García C, Hernández T, Moreno J L, Ros M. Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(13): 1877-1883.
- [6] Powell J R, Rillig M C. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi and ecosystem function. *New Phytologist*, 2018, 220(4): 1059-1075.
- [7] Deacon L J, Pryce-Miller E J, Frankland J C, Bainbridge B W, Moore P D, Robinson C H. Diversity and function of decomposer fungi from a grassland soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(1): 7-20.
- [8] Bever J D, Mangan S A, Alexander H M. Maintenance of plant species diversity by pathogens. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2015, 46: 305-325.
- [9] Adkins J, Docherty K M, Gutknecht J L M, Miesel J R. How do soil microbial communities respond to fire in the intermediate term? Investigating direct and indirect effects associated with fire occurrence and burn severity. *Science of the Total Environment*, 2020, 745: 140957.
- [10] Carson C M, Jumpponen A, Blair J M, Zeglin L H. Soil fungal community changes in response to long-term fire cessation and N fertilization in tallgrass prairie. *Fungal Ecology*, 2019, 41: 45-55.
- [11] Dove N C, Hart S C. Fire reduces fungal species richness and *in situ* mycorrhizal colonization: a meta-analysis. *Fire Ecology*, 2017, 13(2): 37-65.
- [12] 胡小加. 根际微生物与植物营养. *中国油料作物学报*, 1999, 21(3): 77-79.

- [13] 李文华. 东北天然林研究. 北京: 气象出版社, 2011.
- [14] 徐化成. 中国大兴安岭森林. 北京: 科学出版社, 1998: 41-43.
- [15] 张敏, 胡海清. 林火对土壤微生物的影响. 东北林业大学学报, 2002, 30(4): 44-46.
- [16] 彭瑶, 曹凤艳, 曲来叶. 兴安落叶松林不同强度火烧迹地土壤微生物群落特性研究. 植物研究, 2017, 37(4): 549-555.
- [17] 张虹, 峥嵘. 大兴安岭火烧迹地土壤真菌群落结构及多样性研究. 北方园艺, 2017, 41(10): 159-166.
- [18] Nguyen N H, Song Z W, Bates S T, Branco S, Tedersoo L, Menke J, Schilling J S, Kennedy P G. FUNGuild: an open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, 2016, 20: 241-248.
- [19] Toju H, Kishida O, Katayama N, Takagi K. Networks depicting the fine-scale Co-occurrences of fungi in soil horizons. *PloS One*, 2016, 11(11): e0165987.
- [20] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [21] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, 37(8): 911-917.
- [22] 王冰冰, 曲来叶, 宋成军, 宫渊波. 岷江干旱河谷优势灌丛对土壤微生物群落组成的影响. 生态学报, 2015, 35(8): 2481-2493.
- [23] Chen H, Zhao X R, Lin Q M, Li G T, Kong W D. Using a combination of PLFA and DNA-based sequencing analyses to detect shifts in the soil microbial community composition after a simulated spring precipitation in a semi-arid grassland in China. *Science of the Total Environment*, 2019, 657: 1237-1245.
- [24] Adams R I, Miletto M, Taylor J W, Bruns T D. Dispersal in microbes: fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances. *The ISME Journal*, 2013, 7(7): 1262-1273.
- [25] Callahan B J, McMurdie P J, Rosen M J, Han A W, Johnson A J A, Holmes S P. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 2016, 13(7): 581-583.
- [26] 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.
- [27] 赖江山, 米湘成. 基于 Vegan 软件包的生态学数据排序分析//第九届全国生物多样性保护与持续利用研讨会论文集. 厦门: 国际生物多样性计划中国委员会, 中国科学院生命科学与生物技术局, 2010.
- [28] Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett W S, Huttenhower C. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology*, 2011, 12(6): R60.
- [29] 白震, 何红波, 张威, 解宏图, 张旭东, 王鸽. 磷脂脂肪酸技术及其在土壤微生物研究中的应用. 生态学报, 2006, 26(7): 2387-2394.
- [30] Hernández T, García C, Reinhardt I. Short-term effect of wildfire on the chemical, biochemical and microbiological properties of Mediterranean pine forest soils. *Biology and Fertility of Soils*, 1997, 25(2): 109-116.
- [31] 赵先丽, 程海涛, 吕国红, 贾庆宇. 土壤微生物生物量研究进展. 气象与环境学报, 2006, (4): 68-72.
- [32] Dooley S R, Treseder K K. The effect of fire on microbial biomass: a meta-analysis of field studies. *Biogeochemistry*, 2012, 109(1/3): 49-61.
- [33] Chao A. Non-parametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of Statistics*, 1984, 11: 265-270.
- [34] 吴昊. 不同类型群落物种多样性指数的比较研究. 中南林业科技大学学报, 2015, 35(5): 84-89.
- [35] 杨立宾, 隋心, 魏丹, 崔福星, 朱道光, 倪红伟. 大兴安岭棕色针叶林土壤的真菌多样性. 应用生态学报, 2019, 30(10): 3411-3418.
- [36] 梁宇, 郭良栋, 马克平. 菌根真菌在生态系统中的作用. 植物生态学报, 2002, 26(6): 739-745.
- [37] Lynd L R, Weimer P J, van Zyl W H, Pretorius I S. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2002, 66(3): 506-577.
- [38] Ma A Z, Zhuang X L, Wu J M, Cui M M, Lv D, Liu C Z, Zhuang G Q. Ascomycota members dominate fungal communities during straw residue decomposition in arable soil. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66146.
- [39] 王小玲, 马琨, 伏云珍, 汪志琴, 安嫒嫒. 免耕覆盖及有机肥施用对土壤真菌群落组成及多样性的影响. 应用生态学报, 2020, 31(3): 890-898.
- [40] 安娜, 高纪超, 韩雅棋, 郭绮雯, 许永华, 张晋京, 关松. 施粪肥对人参栽培土壤理化性质和真菌群落结构的影响. 吉林农业大学学报, 2019, 41(6): 695-706.
- [41] Lauber C L, Strickland M S, Bradford M A, Fierer N. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2407-2415.
- [42] Holden S R, Gutierrez A, Treseder K K. Changes in soil fungal communities, extracellular enzyme activities, and litter decomposition across a fire chronosequence in Alaskan boreal forests. *Ecosystems*, 2013, 16(1): 34-46.

- [43] Smith J E. Mycorrhizal symbiosis (third edition). Soil Science Society of America Journal, 2009, 73(2): 694-694.
- [44] 朱教君, 徐慧, 许美玲, 康宏樟. 外生菌根菌与森林树木的相互关系. 生态学杂志, 2003, 22(6): 70-76.
- [45] Tellenbach C, Sieber T N. Do colonization by dark septate endophytes and elevated temperature affect pathogenicity of oomycetes? FEMS Microbiology Ecology, 2012, 82(1): 157-168.
- [46] Tellenbach C, Sumarah M W, Grünig C R, Miller J D. Inhibition of *Phytophthora* species by secondary metabolites produced by the dark septate endophyte *Phialocephala europaea*. Fungal Ecology, 2013, 6(1): 12-18.
- [47] Currah R S, Sigler L, Hambleton S. New records and new taxa of fungi from the mycorrhizae of terrestrial orchids of Alberta. Canadian Journal of Botany, 1987, 65(12): 2473-2482.
- [48] Currah R S, Hambleton S, Smreciu A. Mycorrhizae and mycorrhizal fungi of calypso bulbosa. American Journal of Botany, 1988, 75(5): 739-752.
- [49] Fernando A A, Currah R S. A comparative study of the effects of the root endophytes *Leptodontidium orchidicola* and *Phialocephala fortinii* (Fungi Imperfecti) on the growth of some subalpine plants in culture. Canadian Journal of Botany, 1996, 74(7): 1071-1078.
- [50] Hansen P M, Semenova-Nelsen T A, Platt W J, Sikes B A. Recurrent fires do not affect the abundance of soil fungi in a frequently burned pine savanna. Fungal Ecology, 2019, 42: 100852.
- [51] 郑欢, 张芝元, 韩燕峰, 陈万浩, 梁宗琦. 刺槐内生真菌群落组成及其生态功能结构分析. 菌物学报, 2018, 37(2): 256-263.
- [52] 熊丹, 欧静, 李林盼, 杨舒婷, 何跃军, 李朝婵. 黔中地区马尾松林下杜鹃根部内生真菌群落组成及其生态功能. 生态学报, 2020, 40(4): 1228-1239.
- [53] 殷帅文, 王庆先, 李强, 聂森, 肖丽国, 李波. 20种植物提取物抑制植物病原菌活性研究. 天然产物研究与开发, 2009, 21(2): 306-311.