

DOI: 10.5846/stxb202008072061

刘立玲, 周光益, 党鹏, 陈洁, 尚海, 邱丽琼, 朱宁华. 湘西石漠化区 3 种造林模式土壤真菌群落结构差异. 生态学报, 2022, 42(10): 4150-4159.

Liu L L, Zhou G Y, Dang P, Chen J, Shang H, Qiu L Q, Zhu N H. Differences of soil fungal community structure under three afforestation modes in rocky desertification region of Western Hunan Province. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(10): 4150-4159.

湘西石漠化区 3 种造林模式土壤真菌群落结构差异

刘立玲^{1,2,3}, 周光益², 党鹏^{1,3}, 陈洁², 尚海³, 邱丽琼^{1,2,3}, 朱宁华^{1,3,*}

1 中南林业科技大学林学院, 长沙 410004

2 中国林业科学研究院热带林业研究所, 广州 510520

3 武陵山石漠化综合治理国家长期科研基地, 吉首 416000

摘要:湘西石漠化地区是我国生态系统脆弱而又敏感的区域, 土壤微生物在维持石漠化区森林生态系统结构和功能稳定中发挥重要作用。选取石漠化地区立地条件相同的 32 年生的马尾松纯林、光皮桦纯林及马尾松-光皮桦混交林为研究对象, 以立地条件相似的未造林荒地演变成的灌草群落作为对照, 比较分析石漠化地区不同造林模式对土壤真菌群落结构和多样性的影响及其主要驱动因素。采用 Illumina HiSeq 第二代高通量测序技术, 分析了 3 种森林土壤真菌群落组成及多样性。结果表明, 不同造林模式下土壤真菌优势类群不同, 光皮桦、马尾松-光皮桦混交林以及石漠化灌草地土壤真菌优势门均为子囊菌门 (Ascomycota), 且在石漠化灌草地相对丰度最大, 为 64.0%; 马尾松则以担子菌门 (Basidiomycota) 为优势类群, 其相对丰度占 57.9%。混交林土壤真菌物种总数和 Shannon 指数显著高于马尾松和光皮桦林地, 整体上真菌群落多样性表现为: 未造林灌草地 > 混交林 > 马尾松林 > 光皮桦林。与未造林灌草地相比, 马尾松-光皮桦混交林和光皮桦纯林显著提升了土壤有机碳 (SOC) 和全氮 (TN) 含量。Mantel test 检验结果显示, 真菌群落结构与全磷 (TP)、有机碳 (SOC)、铵态氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝态氮 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$)、全氮 (TN)、pH 和含水量 (SWC) 具有显著相关性 ($P < 0.05$), 其中土壤 SOC、TN、pH 值对真菌群落结构影响最大。冗余分析 (RDA) 结果发现, 子囊菌 (Ascomycota) 与 pH、TP、SOC、TN、AP、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量均呈正相关; 担子菌门 (Basidiomycota) 和被孢霉门 (Mortierellomycota) 主要与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 成正相关, 与 pH、TP、SOC、TN、AP、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 呈负相, 而罗氏菌门 (Rozellomycota) 与 SWC 呈正相关 ($P < 0.05$)。综上, 相比针叶纯林, 石漠化地区针阔混交林能通过增加土壤 SOC、TN 而显著提高真菌群落多样性, 促进土壤肥力状况的提升。此研究结果可以为石漠化区人工植被恢复以及土壤肥力管理提供依据。

关键词: 石漠化地区; 不同造林模式; 土壤真菌; 多样性指数

Differences of soil fungal community structure under three afforestation modes in rocky desertification region of Western Hunan Province

LIU Liling^{1,2,3}, ZHOU Guangyi², DANG Peng^{1,3}, CHEN Jie², SHANG Hai³, QIU Liqiong^{1,2,3}, ZHU Ninghua^{1,3,*}

1 College of Forestry, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

2 Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China

3 Wuling Mountain Rocky Desertification Comprehensive Management National Long-term Scientific Research Base, Jishou 416000, China

Abstract: Rocky desertification area in Western Hunan province is a fragile and sensitive area of ecosystem in China. Soil microorganisms play an important role in maintaining the stability of forest ecosystem structure and function in rocky desertification area. Thirty two year-old pure *Pinus massoniana* forest, pure *Betula luminifera* forest and mixed *Pinus massoniana* and *Betula luminifera* forest in rocky desertification area with the same site conditions were selected as the

基金项目: 中央级科研院所基本科研业务费重点项目 (CAFYBB2019SZ003); 中南林业科技大学研究生科技创新基金 (CX20192026)

收稿日期: 2020-08-07; **网络出版日期:** 2022-01-11

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhuninghua@yahoo.com

research objects. The non-forested shrub grassland with the similar site conditions was taken as the control to compare and analyze the influence of different afforestation modes on soil fungal community structure and diversity and their main driving factors. The composition and diversity of soil fungal communities in three forests were analyzed by Illumina HiSeq second-generation high-throughput sequencing technology. The results showed that the dominant groups of soil fungi were different under different afforestation modes. The dominant phylum of soil fungi in *Betula luminifera*, mixed forest and non-forested shrub grassland were Ascomycota, and the relative abundance was the largest in non-forested shrub grassland, which was 64.0%. Basidiomycota was the dominant group in *Pinus massoniana*, its relative abundance accounted for 57.9%. The total number of soil fungal species and Shannon index of mixed forest were significantly higher than those of *Pinus massoniana* and *Betula luminifera* forest. On the whole, the diversity of fungal community was as follows: non-forested shrub grassland > mixed forest > *Pinus massoniana* forest > *Betula luminifera* forest. The contents of soil organic carbon (SOC) and total nitrogen (TN) in the mixed forest and *Betula luminifera* pure forest were significantly higher than those in non-forested shrub grassland. Mantel test showed that fungal community structure was significantly correlated with total phosphorus (TP), SOC, ammonium nitrogen ($\text{NH}_4^+\text{-N}$), nitrate nitrogen ($\text{NO}_3^-\text{-N}$), TN, pH and water content (SWC) ($P < 0.05$). Soil SOC, TN and pH had the greatest impact on fungal community structure. Redundancy analysis (RDA) showed Ascomycetes were positively correlated with pH, TP, SOC, TN, AP and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ content; Basidiomycetes and Mortierella were mainly positively correlated with $\text{NH}_4^+\text{-N}$, and negatively correlated with pH, TP, SOC, TN, AP and $\text{NO}_3^-\text{-N}$. There was a positive correlation between Rozellomycota and SWC. In conclusion, compared with pure coniferous forest, coniferous and broad-leaved mixed forest in rocky desertification area can significantly improve the diversity of fungal community by increasing soil SOC and TN, and promote the improvement of soil fertility. The results can provide basis for artificial vegetation restoration and soil fertility management in rocky desertification area.

Key Words: rocky desertification area; different afforestation modes; soil fungi; diversity index

石漠化是我国西南山地突出的环境问题,岩石裸露率高,生态系统脆弱,植被退化是石漠化发展的重要原因和标志^[1-2],而植被恢复是控制石漠化发展的重要途径。已有学者对石漠化地区植被恢复过程开展了一些研究,如植被恢复模式^[3]、次生林群落特征及林分结构^[4]、植物多样性及分布^[5-7]以及土壤养分变化^[8-10]等,但有关石漠化区不同造林模式下土壤微生物群落结构尚研究较少。

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,与土壤氮、磷等营养元素含量密切相关,进而影响地上植被组成及结构^[11],而地上植被通过有机物输入等调节地下微生物群落结构,使土壤微生物组成及多样性存在差异,植被与微生物在不同土壤养分条件下形成反馈调节^[12-15]。土壤微生物对环境的变化十分敏感,能提高对抗土壤生态环境恶化的缓冲能力^[16-17]。土壤真菌作为分解者,广泛参与森林生态系统有机质和大分子物质的分解,尤其是酸性森林土壤,能有效改善土壤质地和结构,参与营养元素的生物化学循环,同时也会影响植物根际微生物的结构^[18],与细菌相比,土壤真菌更能有效利用碳源,对于干旱环境更具有适应性优势。研究表明,土壤真菌可以作为森林干扰中土壤健康的指标^[19],真菌群落结构主要受到植被类型^[20]或土地管理措施^[21]的影响,不同林型土壤真菌群落组成和多样性存在明显差异。

目前有关石漠化地区森林土壤真菌群落特征及其影响机制的研究相对匮乏,探究石漠化区不同造林模式对真菌群落组成特征及多样性对揭示石漠化区不同植被恢复模式下土壤质量的演变及其驱动因子具有重要意义。本研究以湘西自治州森林生态研究实验站石漠化区的植被恢复地作为研究对象,利用高通量测序技术对不同造林模式林地的土壤真菌群落进行测定,研究不同造林模式对土壤真菌群落的影响,旨在揭示不同造林模式下土壤真菌多样性和群落组成的差异及其主要土壤环境影响因子,研究结果可进一步增强对石漠化生态系统中土壤微生物群落组成的认识,为预测生态系统对环境变化的响应提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验区位于湖南省湘西自治州森林生态研究实验站(109°10'E, 27°44.5'N), 大陆性季风气候明显, 境内年平均降水量 1300—1500 mm, 年平均温度 16.3 °C, 年无霜期 269—292 d, 年日照时数为 1340 h。该地的母岩分布主要是石灰岩, 土壤以黄棕壤为主。试验林均 1989 年以 2 m×3 m 的株行距营造的人工林, 其中, 马尾松 (*Pinus massoniana*) 和光皮桦 (*Betula luminifera*) 混交林是按 1:1 的比例进行株间混交造林, 并根据间密留疏的原则对中幼龄林进行抚育管理, 之后人为干扰较小。所选样地初植密度均为 1650 株/hm²。各样地自然概况见表 1。

表 1 样地概况

Table 1 Conditions of sampling plots

林分类型 Stand type	平均胸径 Mean DBH/cm	平均树高 Mean tree height/m	林分密度 Stand density/ (株/hm ²)	郁闭度 Canopy density/%	坡度 Slope/(°)	海拔 Altitude/m
PM	18.7	17.2	1100	0.80	21	625
BL	16.9	16.1	1120	0.73	18	620
MF	18.5	17.8	1200	0.81	20	630
CK	—	—	—	—	19	612

PM, 马尾松纯林 *Pinus massoniana*; BL, 光皮桦纯林 *Betula luminifera*; MF, 马尾松-光皮桦混交林 Mixed Forest; CK, 未造林灌草地 Control check; DBH: Diameter at Breast Height (forestry)

1.2 样地设置与样品采集

于 2019 年 7 月在对照样地及 3 种造林地分别设置 3 个 20 m×20 m 的标准样方, 并在每个样方内采用“S”形 5 点采样法确定采样点(共计 15 个), 取样前去除土壤表层的凋落物, 在样点做土壤剖面, 采集 0—20 cm 土层土样, 将每个样方中 5 个采样点所采集的土壤样品混合均匀。将一部分土样无菌塑料袋中并编号放于恒温箱内带回实验室, 用于土壤微生物多样性的分析(高通量测序, 样品需装入已灭菌的 2 mL 冻存管中进行-80 °C 保存)。其余部分经过风干处理后, 用于土壤理化性质等指标的测定。

1.3 土壤理化性质测定

分别测定四组样品的土壤含水率(SWC)、pH 值、土壤有机碳(SOC)、全氮(TN)、全磷(TP)等指标。其中, SWC 采用烘干法(105 °C, 8 h); pH 值用水浸提电位法(酸度计 FE20K, Mettler)测定; SOC 采用重铬酸钾-外加热硫酸氧化法(LY/T 1237—1999)进行测定; 土壤 N、P 则分别采用半微量凯氏定氮法(LY/T 1228—1999)和钼锑抗比色法(LY/T 1232—1999)进行测定^[22]。

1.4 土壤总 DNA 提取、PCR 扩增及测序

1.4.1 土壤总 DNA 提取、PCR 扩增

转移 250—500 mg 的新鲜样品到 2.0 mL 进口离心管中, 将 NucleoSpin Bead Tube 中的研磨珠倒入样品管内, 加入 700 μL 的 SL2; 再加 150 μL 的 Enhancer SX, 盖紧离心管, 涡旋混匀, 将样品管放入震荡混匀仪, 于 70 °C 下以 1000—1200 rpm 震荡 10 min, 裂解完毕的样品, 经过 12000 rpm 离心 2 min, 转移大约 700 μL 上清液到新的 2.0 mL 进口离心管中加入 150 μL SL3, 颠倒混匀后, 4 °C 孵育 5 min, 12000 rpm 离心 2 min; 过滤去除抑制剂, 进行 DNA 结合, 清洗并且干燥硅基质膜, 将 DNA 洗脱后转至新的 1.5 mL 进口离心管中备用。

选用长度约为 250 bp 的真菌 ITS 基因的高度可变的 ITS1 区为目标片段, 使用 ITS1F: CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA 和 ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC 通用引物组从每个样本提取的基因组 DNA 中扩增全长 ITS rRNA 基因。使用 KOD One PCR 主混合物(TOYOBO Life Science)进行为期 25 个周期的 PCR 扩增。

1.4.2 高通量测序及 OTU 的划分

PCR 扩增产物的定量测定、均一化、文库制备、上机测序及数据质量控制等均由百迈客云平台完成。上机测序采用 Illumina HiSeq 测序平台。利用双末端测序 (Paired-End) 的方法,构建小片段文库进行测序。通过对原始测序序列进行过滤、双端拼接,得到优化序列 (Tags),将优化序列进行聚类,划分 OTU,并根据 OTU 的序列组成得到其物种分类,将相似性 97% 的序列进行聚类,基于分类单元进行物种注释,将测序错误序列及丰度值低于全体样本测序总量 0.001% 的 OTU 去除,将去除了稀有 OTU 的丰度矩阵用于后续的系列分析。

1.5 重要值计算方法

物种重要值是描述植物多样性的重要指标^[23],其计算公式如下:

$$\text{重要值}(\%) = (\text{相对密度} + \text{相对优势度} + \text{相对频度}) / 3 \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{相对密度}(\%) = (\text{某种植物的个体数} / \text{全部植物的个体数}) \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{相对优势度}(\%) = (\text{样方中该种个体总面积} / \text{样方中全部个体总面积}) \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{相对频度}(\%) = (\text{某种在全部样方中的频度} / \text{所有种频度之和}) \times 100\% \quad (4)$$

1.6 土壤微生物菌群稳定性计算方法

对于所取的土壤样本,引入特异性测量 (Specific measurement, SPM) 算法^[24]来量化菌群的丰度变化情况,依据群落丰度的变化 (SPM 值),采用参数分散法 (DPM) 评价微生物群落的稳定性^[25]。计算过程如下:

首先将某微生物种群丰度 (X) 转换为对应的向量 X :

$$X = (X_1, X_2, \dots, X_i, \dots, X_{n-1}, X_n) \quad (5)$$

$$X_i = (0, 0, \dots, X_i, \dots, 0, 0) \quad (6)$$

$$\text{SPM}_i = \cos\phi = \frac{X_i \times X}{|X_i| \times |X|} \quad (7)$$

式中, n 代表微生物种群的数量, X_i 代表第 i 个微生物种群的丰度, 向量 X_i 代表该菌群在第 i 个样本的丰度; ϕ 为样品中的微生物菌群丰度。

将某微生物种群丰度 (X) 转换为对应的 SPM 值 (X_{SPM}):

$$X_{\text{SPM}} = (\text{SPM}_1, \text{SPM}_2, \dots, \text{SPM}_i, \dots, \text{SPM}_{n-1}, \text{SPM}_n) \quad (8)$$

$$\text{DPM} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\text{SPM}_i - \overline{\text{SPM}})^2}{n-1}} \times \sqrt{n} \quad (9)$$

式中, n 代表样本数量, $\overline{\text{SPM}}$ 代表微生物种群 SPMs 的平均值。DPM 的值范围在 0—1, 当 $\text{DPM} < 0.4$ 时, 定义为稳定菌群; 当 $\text{DPM} > 0.4$, 定义为活跃菌群。当 $\text{SPM} > 0.9$ 时, 我们认为该微生物种群属于特异性种群, 其在某个样本中特异性高丰度富集。

1.7 数据处理及分析

对样品 α 多样性 (Alpha diversity) 指数的分析采用 Mothur 软件进行, 计算 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 等物种多样性指数。采用 SPSS 25.0 对不同造林模式下土壤理化性质及真菌群落多样性差异进行单因素方差分析, 比较不同造林模式下的差异显著性校验采用多元方差分析 (PERMANOVA)。通过 Mantel 检验和冗余度分析 (RDA) 分析了真菌与土壤环境因子的关系。所有的统计分析都是在 R 3.5.1 中用 “vegan” 包进行的。

2 结果与分析

2.1 不同造林模式下优势植物种及重要值

重要值是确定某种植物在群落中相对重要性的一个综合性指标, 能有效反映不同植被类型中各种植物在群落中的功能地位及分布格局^[26]。不同造林模式下主要植物组成及重要值见表 2。表 2 显示: 圆叶鼠李

(*Rhamnus globosa*) 在光皮桦纯林和混交林中重要值最大,分别为 6.56、7.58,寒莓(*Rubus buergeri*)和灰白毛莓(*Rubus tephrodes*)分别是马尾松纯林和未造林灌草地中重要值最大的灌木种。草本层中,马兰(*Kalimeris indica*)在光皮桦纯林中和混交林中重要值均最大,分别为 16.12、17.78,而在马尾松纯林中是毛蕨(*Cyclosorus interruptus*)的重要值最大,为 15.12,而过路黄(*Lysimachia christinae*)在未造林灌草地中的重要值最大,值为 17.75。未造林灌草地由于没有高大乔木,光照充足,灌草种类要多于人工林。

表 2 不同造林模式下主要植物组成及重要值

Table 2 The main plant composition and important values of different afforestation patterns

植被层次 Vegetation level	林分类型 Stand type	主要物种及其重要值 Main species and their important values/%
灌木层 Shrub layer	BL	圆叶鼠李(<i>Rhamnus globosa</i>) (6.56) + 小果蔷薇(<i>Rosa cymosa</i>) (5.69) + 竹叶花椒 (3.91)
	PM	寒莓(<i>Rubus buergeri</i>) (7.60) + 菝葜(<i>Smilax china</i>) (4.82) + 常春藤(<i>Hedera nepalensis</i>) (4.21)
	MF	圆叶鼠李(<i>Rhamnus globosa</i>) (7.58) + 白筋(<i>Eleutherococcus trifolius</i>) (4.15) + 竹叶花椒(<i>Zanthoxylum armatum</i>) (2.89)
	CK	灰白毛莓(6.45) + 小花花椒(<i>Zanthoxylum micranthum</i>) (4.37) + 高粱泡(<i>Rubus lambertianus</i>) (3.98)
草本层 Herbaceous layer	BL	马兰(<i>Kalimeris indica</i>) (16.12) + 鸭儿芹(<i>Cryptotaenia japonica</i>) (7.45) + 莎草(<i>Cyperus rotundus</i>) (4.61)
	PM	毛蕨(<i>Cyclosorus interruptus</i>) (15.12) + 莎草(<i>Cyperus rotundus</i>) (6.12) + 凤尾蕨(<i>Pteris cretica</i>) (3.89)
	MF	马兰(<i>Kalimeris indica</i>) (17.78) + 毛蕨(<i>Cyclosorus interruptus</i>) (8.64) + 仙鹤草(<i>Agrimonia pilosa</i>) (5.48)
	CK	过路黄(<i>Lysimachia christinae</i>) (17.75) + 飞蓬(<i>Erigeron acer</i>) (8.35) + 山药(<i>Dioscorea polystachya</i>) (7.05)

2.2 不同造林模式下的土壤理化性质

土壤理化性质分析结果表明,土壤 SOC、TP、TN、SWC 含量和 pH 值均在不同林分间差异显著($P<0.05$) (表 3)。其中,混交林土壤 SOC、TP 含量均显著高于其它人工林地。土壤 TN 含量在光皮桦和混交林之间差异不显著,但均显著高于马尾松林。土壤 SWC 含量在光皮桦和混交林地较高,在马尾松林中较低。造林地中的土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量显著高于未造林地,且以光皮桦林最高;而 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量则低于未造林灌草地,其中混交林土壤 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量最低。

表 3 不同造林模式下土壤理化性质的变化(平均值±标准误)(0—20 cm)

Table 3 Soil physical and chemical properties under different afforestation patterns (means±SE) (0—20 cm)

林分类型 Stand type	SOC/ (g/kg)	TP/ (g/kg)	TN/ (g/kg)	$\text{NH}_4^+\text{-N}/$ (mg/kg)	$\text{NO}_3^-\text{-N}/$ (mg/kg)	AP/ (mg/kg)	pH	SWC
PM	23.57±0.69b	0.22±0.00c	1.26±0.06b	34.98±3.21a	10.08±0.58b	0.64±0.14c	5.48±0.04c	0.21±0.01b
BL	42.83±1.73a	0.31±0.02b	2.05±0.09a	44.98±1.67a	13.41±0.94a	1.14±0.10a	5.65±0.06b	0.25±0.01a
MF	43.61±1.64a	0.35±0.01a	2.25±0.13a	41.51±0.95a	9.59±1.33b	0.82±0.07b	5.72±0.06a	0.24±0.01a
CK	20.40±0.42c	0.27±0.01b	1.13±0.02c	27.15±3.51b	12.93±0.52a	0.88±0.02b	5.78±0.06a	0.23±0.02b

同一列不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著;SOC:有机碳 Soil Organic Carbon;TP:全磷 Total Phosphorus;TN:全氮 Total Nitrogen; $\text{NH}_4^+\text{-N}$:铵态氮 ammonium; $\text{NO}_3^-\text{-N}$:硝态氮 nitrate nitrogen;AP:有效磷 Available Phosphorus;SWC:土壤含水率 Soil Water Content

2.3 不同造林模式下土壤真菌组成

不同造林模式下土壤真菌组成如图 1 所示。马尾松林地土壤样品中,门级水平除了未确定的真菌类群,担子菌门(Basidiomycota)为优势类群,其相对丰度为 57.93%,其次为被孢霉门(Mortierellomycota)相对丰度为 9.96%、子囊菌门(Ascomycota)相对丰度为 9.50%,罗兹菌门(Rozellomycota)相对丰度为 1.38%。光皮桦林地土壤样品中,未确定的真菌类群相对丰度较大,后依次为子囊菌门(Ascomycota)相对丰度为 35.0%,担子菌门(Basidiomycota)相对丰度为 1.68%,被孢霉门(Mortierellomycota)相对丰度为 0.87%。混交林土壤样品中,未确定的真菌类群相对丰度所占比例较大为 30.98%,子囊菌门(Ascomycota)为优势类群,相对丰度为 28.00%,

其次为担子菌门 (Basidiomycota) 相对丰度为 27.94%、被孢霉门 (Mortierellomycota) 相对丰度为 6.49%。而石漠化灌草地土壤样品中,子囊菌门 (Ascomycota) 相对丰度为 64.00% 为优势类群,其次为担子菌门 (Basidiomycota) 相对丰度为 8.64%、被孢霉门 (Mortierellomycota) 相对丰度为 2.48%,未确定的真菌类群相对丰度为 23.98%。由图 2 可知,基于 binary_jaccard 距离分析土壤真菌群落 beta 多样性,组间存在差异,但检验的可信度不高 ($P>0.05$)。

利用 DPM 分析石漠化区不同造林模式下土壤真菌各个门种群的变化(表 4),结果发现:相对丰度高于 1% 的核心菌门中,子囊菌门 (Ascomycota) 和担子菌门 (Basidiomycota) 丰度变化值 $DPM>0.4$,因此我们认为石漠化区不同造林模式土壤中子囊菌门和担子菌门菌群为活跃菌群。

2.4 土壤真菌多样性分析

Alpha 多样性分析结果表明,3 种不同造林模式下的土壤真菌多样性指数存在显著差异 ($P<0.05$) (表 5)。3 种不同造林模式中,混交林土壤真菌物种总数高于其他造林模式,混交林土壤真菌 Shannon 指数显著高于马尾松和光皮桦林地,而马尾松和光皮桦纯林之间差异不显著,整体上真菌群落多样性表现为:混交林>马尾松林>光皮桦林。石漠化区土壤中存在大量未知的真菌菌群,与未造林灌草地相比,造林后土壤真菌物种总数明显增加,已知注释出的土壤真菌种的数量要高于未造林灌草地。

目前研究认为环境因子是土壤微生物群落结构变化的驱动力,而土壤性质的改变与土壤微生物群落结构密切相关^[27]。通过前面的研究发现石漠化区通过人工造林后土壤微生物群落结构会发生显著变化。因此我们进一步以真菌的 OTUs 数据与土壤性质进行 Mantel test 分析,确定土壤真菌群落结构与土壤性质之间的关系(表 6)。结果发现,在石漠化区不同林分类型土壤的 8 个土壤性质 (SOC、TN、TP、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、AP、pH 值、SWC) 均会对其产生影响,其中 SOC、TN、TP、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、pH 值、SWC 均对土壤真菌群落结构有极显著正相关,AP 对土壤真菌群落结构呈现显著正相关影响,且 SOC 和 TN 对真菌群落结构影响最大。

2.5 不同造林模式下土壤真菌结构和土壤理化性质的 RDA 分析

对土壤环境因子和门水平的真菌群落结构进行了冗余分析 (RDA),旨在提取与土壤性质相关的关键微

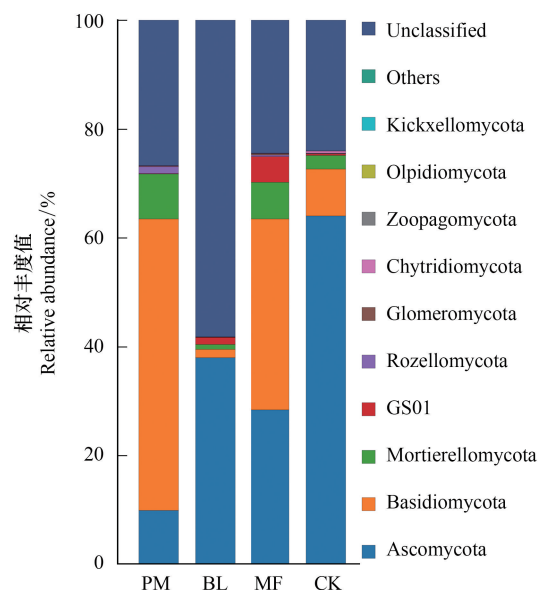


图 1 不同造林模式土壤真菌群落相对丰度

Fig. 1 The relative abundance of soil fungal communities in different afforestation modes

PM, 马尾松纯林 *Pinus massoniana*; BL, 光皮桦纯林 *Betula luminifera*; MF, 马尾松-光皮桦混交林 Mixed Forest; CK, 未造林灌草地 Control check。Ascomycota: 子囊菌门; Basidiomycota: 担子菌门; Mortierellomycota: 被孢霉门; GS01: 芽孢杆菌门; Rozellomycota: 罗兹菌门; Glomeromycota: 球囊菌门; Chytridiomycota: 壶菌门; Zoopagomycota: 捕虫霉门; Olpidiomyces: 油壶菌门; Kickxellomycota: 梳霉门; others: 其他; Unclassified: 未分类

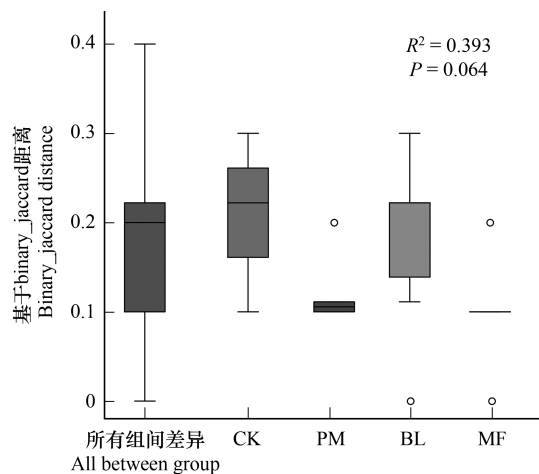


图 2 基于 binary_jaccard 距离土壤真菌群落 beta 多样性分析

Fig. 2 The beta diversity analysis of soil fungal community based on binary_jaccard distance

R^2 表示不同分组对样品差异的解释度,即分组方差与总方差的比值, R^2 越大表示分组对差异的解释度越高,表示分组差异越大, P 值小于 0.05 时说明检验的可信度高

生物类群(图3)。RDA分析结果的第一轴可解释所有影响土壤真菌群落因子的32.27%,第二轴可解释所有影响土壤真菌群落因子的21.22%,两轴累计解释量达53.49%。此外,土壤pH值、 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、AP、TP、SWC是影响各土壤真菌群落结构主要环境因子。子囊菌(Ascomycota)与pH、TP、SOC、TN、AP、 NO_3^- -N、含量均呈正相关;担子菌门(Basidiomycota)和被孢霉门(Mortierellomycota)主要与 NH_4^+ -N成正相关,与pH、TP、SOC、TN、AP、 NO_3^- -N呈负相关。罗氏菌门(Rozellomycota)与SWC呈正相关。

表4 不同真菌门丰度的DPM值
Table 4 The DPM values of different fungal phyla

门水平 Phylum level	PM	BL	MF	CK	DPM
子囊菌门 Ascomycota	0.100	0.38	0.284	0.64	0.520
担子菌门 Basidiomycota	0.535	0.015	0.351	0.086	0.505
被孢霉门 Mortierellomycota	0.083	0.009	0.067	0.025	0.074
芽孢杆菌门 GS01	0	0.013	0.047	0.003	0.044
罗兹菌门 Rozellomycota	0.013	0.001	0.003	0.001	0.035
球囊菌门 Glomeromycota	0	0	0.002	0	0.014
壶菌门 Chytridiomycota	0.002	0	0.001	0.004	0.005

DPM:参数分散法 Parameter dispersion method

表5 不同造林模式下土壤真菌群落多样性分析
Table 5 Diversity analysis of soil fungal communities in different afforestation patterns

样地名称 Plot name	OTU	ACE ACE 指数	Chao1 Chao 指数	D Simpson 指数	H Shannon-Wiener 指数
PM	447.75±16.56ab	617.73±21.41b	595.07±3.98a	0.15±0.02a	2.81±0.21c
BL	435.50±19.71b	570.44±14.36c	564.01±19.85a	0.18±0.05a	2.78±0.33c
MF	486.25±13.77a	571.24±14.05c	565.25±14.68a	0.09±0.03ab	3.51±0.30b
CK	399.67±6.12c	694.92±40.04a	560.10±24.21a	0.01±0.01ab	3.78±0.08a

OTU:操作分类单位 Operational Taxonomic Units; ACE:样本中物种组成的丰富度和均匀度;Chao1:描述样品中所含 OTU 数目的指数;D: Simpson 指数; Simpson index;H:Shannon-Wiener 指数; Shannon-Wiener index

表6 基于 Mantel test 分析真菌群落与土壤之间的关系
Table 6 The correlation analysis between fungal communities and soil properties using Mantel test analysis

土壤性质 Soil properties	r	P	土壤性质 Soil properties	r	P
TP	0.26703	0.003	TN	0.42543	0.001
SOC	0.44008	0.001	AP	0.12442	0.027
NH_4^+ -N	0.22249	0.004	SWC	0.28665	0.001
NO_3^- -N	0.19498	0.005	pH	0.36837	0.001

r: 相关系数值;P: 相关系数检验 P 值

3 讨论

3.1 不同造林模式下土壤理化性质的差异

不同类型人工林在0—20 cm 土层土壤中 SOC、TN、TP、AP 含量不同,其中马尾松林土壤中土壤养分含量最低,可能是因为马尾松林为针叶林,枯枝落叶保水能力较弱,且针叶分解速度较慢,从而导致土壤肥沃度下降。其次,有机质能够在一定程度上改善土壤的结构,较高的有机质和全氮含量能提高土壤的疏松度和保水能力。土壤肥力同时也取决于当地气候、土壤形成条件、环境以及不同地区的人为影响^[27]。有研究表明,不同石漠化等级土壤养分含量差异显著,N、P、K 是影响石漠化地区物种组成的主要因子,其分布特征可以部分解释草本和灌木分布的不均匀性^[28]。

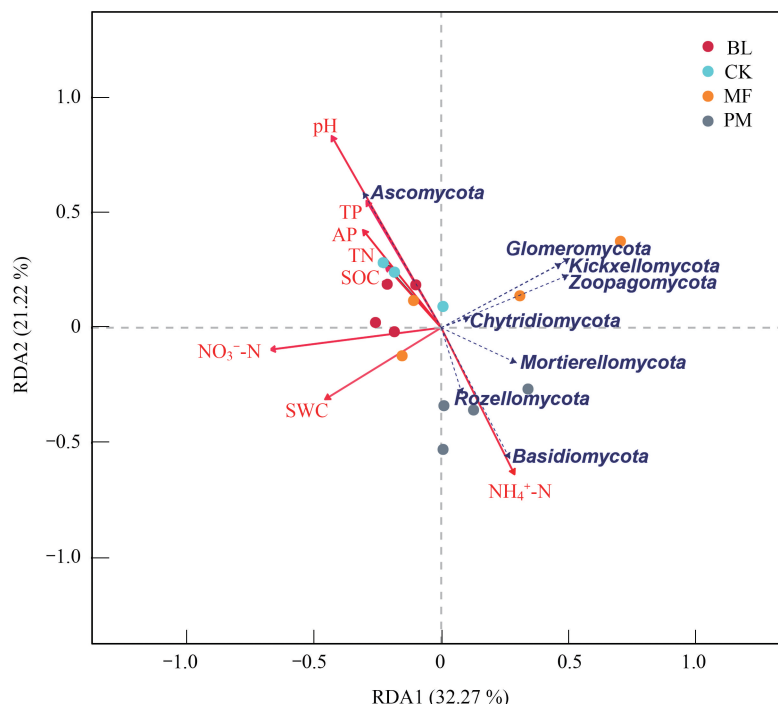


图 3 不同造林模式下土壤真菌群落样地-环境 RDA 排序

Fig.3 The soil fungi community RDA sort of sample area and environment in different afforestation patterns

RDA: 冗余分析 Redundancy analysis; SOC: 有机碳 Soil Organic Carbon; TP: 全磷 Total Phosphorus; TN: 全氮 Total Nitrogen; $\text{NH}_4^+\text{-N}$: 铵态氮 Ammonium; $\text{NO}_3^-\text{-N}$: 硝态氮 Nitrate Nitrogen; AP: 有效磷 Available Phosphorus; SWC: 土壤含水率 Soil Water Content; pH: pH 值; 相同圆点代表重复样品

石漠化地区不同植被恢复模式下土壤理化性质存在明显差异,有研究显示,相同土层条件下,针阔混交林中土壤有机质、有效氮和土壤持水量均显著高于纯林,其土壤生物学性质更加完善^[29]。与本研究结果相似,混交林土壤的 SOC、TP、TN 含量要高于纯林,可能是因为混交林中土壤真菌物种总数较多,真菌群落进行的生理生化活动利于土壤有机质矿化和养分库的积累^[30-31]。马尾松为针叶树种,其凋落物以及根系分泌物中含有多种酸性物质,更易使土壤酸化^[32],所以其土壤 pH 值显著低于其他造林模式。林隙土壤含水量出现差异的主要原因在于有机质含量差异^[33],本研究中混交林的 SWC 显著低于纯林,可能是林下植物种类不同,混交林凋落物种类更丰富,菌根和腐生真菌协同竞争相同的有机底物^[34],凋落物分解较慢导致有机质含量增加,但不利于土壤水分的积累,但为土壤微生物提供的营养生态位更全面(这与混交林真菌 Shannon 多样性较高结果一致)。因此,推测混交林凋落物和有机质分解速率大于两种纯林,进而导致土壤有机质累计较慢,土壤蓄水能力较差。

3.2 不同造林模式下土壤真菌群落组成和多样性

植被类型、气候、土壤及人为活动等多种因素均会影响土壤微生物群落结构组成^[35],在立地条件相近的情况下,土壤微生物群落组成结构产生差异的最主要原因是植被类型的不同^[36]。本研究中,混交林的真菌群落丰度最大,其次为马尾松纯林、光皮桦纯林。出现这种现象可能是由于马尾松属于针叶树种,凋落物难分解,土壤中有机质含量低于光皮桦林,加快了真菌的生长速度。在不同的生态系统中,微生物群落的整体组成可能存在较大差异,但优势菌群基本相似^[37]。本研究中,子囊菌门和担子菌门在不同造林模式下的土壤真菌中占有绝对优势,子囊菌门在光皮桦林中的丰度(37.99%)高于马尾松林(9.97%),可能是因为子囊菌主要是腐生菌,腐生菌可以分泌多种酶,以体外方式分解土壤中的有机质及动植物尸体,从而形成二氧化碳、无机盐和简单的有机物,为植物生长提供养分,是土壤养分循环过程中的重要真菌,说明在石漠化地区种植光皮桦林

可以提高子囊菌门真菌群落相对丰度,进一步改善土壤养分环境。而马尾松林中担子菌门丰度远高于光皮桦林,主要是因为马尾松林群落土壤含水量较低,通气性良好,且土壤 pH 值较低,有利于提高担子菌门的丰度^[38]。这与沈芳芳等^[39]在陆地生态系统植物和土壤微生物群落多样性对全球变化的响应与适应研究进展中所得出的结论一致。

土壤特性是影响土壤真菌多样性的重要因素^[40],本研究中马尾松-光皮桦混交林 Shannon 指数高于马尾松和光皮桦纯林,由 Mantel test 分析结果可知 SOC 是影响不同造林模式下土壤真菌群落的主要因子,其次为 TN,可能是因为土壤 C 主要来源于有机质矿化和凋落物分解,土壤 N 的来源主要是凋落物的分解^[41],真菌需要氮养分来合成分解有机物的酶,而碳是真菌生物量的主要成分以及能量来源,土壤微生物会根据地上植物的空间分布变化而发生变化^[42],地上植被演替改变了植物组成及生理特性,从而导致进入土壤的有机碳随之发生改变^[43],因此不同造林模式下真菌群落存在差异。本研究中石漠化地区土壤含水量较低,SWC 对真菌群落结构影响显著,这与前人研究结果相似^[44]。有研究显示宿主植物对土壤中真菌多样性和种类影响显著^[45],因此,植物种类可影响根际微生物群落的结构和活性,根形态和根系分泌物可影响根际微生物群落的物种特异性^[46],地上植被多样性可能是影响地下真菌群落结构与多样性的原因之一,究竟石漠化区植物群落乔木层、灌草层植物多样性与真菌多样性是否存在显著的相关性还需要未来做进一步研究。

4 结论

湘西石漠化治理区内,与未造林灌草地相比,3 种造林模式均提高了土壤 SOC、TP 和 TN 含量,马尾松-光皮桦混交林和光皮桦纯林土壤养分含量高于马尾松纯林。马尾松-光皮桦混交林真菌可识别数量及多样性最高。而土壤 SOC、TN 是导致土壤真菌群落结构出现差异的最主要的环境因子。为提高该区土壤质量,实现植被恢复,推荐光皮桦纯林作为其治理模式,更有利于石漠化生态系统结构稳定性的维持和功能的恢复,若选择马尾松进行石漠化治理,则推荐采用混交林的种植模式。

参考文献 (References):

- [1] 陈永华,熊康宁,池永宽. 我国南方喀斯特石漠化治理进展. 江苏农业科学, 2019, 47(1): 17-21.
- [2] 刘雯雯,喻理飞,严令斌,刘娜,赵庆. 喀斯特石漠化区植被恢复不同阶段土壤真菌群落组成分析. 生态环境学报, 2019, 28(4): 669-675.
- [3] 卢立华,农友,李华,杨予静,明安刚,雷丽群,何日明,陈琳. 植被恢复模式对石漠化生态系统碳储量的影响. 生态学报, 2019, 39(19): 7229-7236.
- [4] 袁丛军,喻理飞,严令斌,葛龙允,杨瑞,王加国,丁亮,王长俊. 喀斯特石漠化区不同经营类型次生林群落特征及林分结构. 西部林业科学, 2017, 46(1): 70-78.
- [5] 李军峰,贾少华,王智慧,张朝晖. 喀斯特石漠化过程中苔藓植物多样性及分布与环境关系. 生态科学, 2015, 34(1): 68-73.
- [6] 司彬,姚小华,任华东,李生,何丙辉. 黔中喀斯特植被自然演替过程中物种组成及多样性研究——以贵州省普定县为例. 林业科学研究, 2008, 21(5): 669-674.
- [7] 康秀琴,魏小丛,李颜斐,黄雅奇,吴安驰,温红芳,邓湘雯. 湘西南喀斯特石漠化地区植物多样性研究. 中南林业科技大学学报, 2019, 39(1): 100-107.
- [8] 白义鑫,盛茂银,胡琪娟,赵楚,吴静,张茂莎. 西南喀斯特石漠化环境下土地利用变化对土壤有机碳及其组分的影响. 应用生态学报, 2020, 31(5): 1607-1616.
- [9] 吴丽芳,王紫泉,王妍,刘云根,杨波,张叶飞. 喀斯特高原不同石漠化程度土壤 C、N、P 化学计量特征和酶活性的关系. 生态环境学报, 2019, 28(12): 2332-2340.
- [10] Ma T S, Deng X W, Chen L, Xiang W H. The soil properties and their effects on plant diversity in different degrees of rocky desertification. Science of the Total Environment, 2020, 736: 139667.
- [11] Van Der Heijden M G A, Klironomos J N, Ursic M, Moutoglou P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A, Sanders I R. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. Nature, 1998, 396(6706): 69-72.
- [12] Massaccesi L, Bardgett R D, Agnelli A, Ostle N, Wilby A, Orwin K H. Impact of plant species evenness, dominant species identity and spatial arrangement on the structure and functioning of soil microbial communities in a model grassland. Oecologia, 2015, 177(3): 747-759.
- [13] Wang S K, Zuo X A, Zhao X Y, Awada T, Luo Y Q, Li Y Q, Qu H. Dominant plant species shape soil bacterial community in semiarid sandy land of northern China. Ecology and Evolution, 2018, 8(3): 1693-1704.

- [14] 何敏红, 何跃军, 吴春玉, 欧静, 林艳, 方正圆, 韩勘, 徐鑫洋. 石漠化强度对喀斯特植被演替过程土壤真菌组成及多样性的影响. 菌物学报, 2019, 38(4): 471-484.
- [15] 张蓉, 于亚军. 煤矸山复垦林地和草地土壤微生物多样性和群落组成的差异及其影响因素. 生态学杂志, 2018, 37(6): 1662-1668.
- [16] Fahey C, Koyama A, Antunes P M, Dunfield K, Flory S L. Plant communities mediate the interactive effects of invasion and drought on soil microbial communities. The ISME Journal, 2020, 14(6): 1396-1409.
- [17] 高雪峰, 韩国栋, 张国刚. 短花针茅荒漠草原土壤微生物群落组成及结构. 生态学报, 2017, 37(15): 5129-5136.
- [18] Courty P E, Buée M, Diedhiou A G, Frey-Klett P, Le Tacon F, Rineau F, Turpault M P, Uroz S, Garbaye J. The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes: new perspectives and emerging concepts. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(5): 679-698.
- [19] Shi L L, Dossa G G O, Paudel E, Zang H D, Xu J C, Harrison R D. Changes in fungal communities across a forest disturbance gradient. Applied and Environmental Microbiology, 2019, 85(12): e00080-19.
- [20] 韩世忠, 高人, 马红亮, 尹云峰, 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.
- [21] 梁雪, 李永春, 陈相君, 李永夫, 陈俊辉, 徐秋芳. 新疆木垒胡杨林区三种林分土壤真菌群落特征. 生态学杂志, 2017, 36(3): 623-630.
- [22] Kasel S, Bennett L T, Tibbits J. Land use influences soil fungal community composition across central Victoria, south-eastern Australia. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(7): 1724-1732.
- [23] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
- [24] 钱迎倩, 马克平. 生物多样性研究的原理与方法. 北京: 中国科学技术出版社, 1994.
- [25] Pan J B, Hu S C, Wang H, Zou Q, Ji Z L. PaGeFinder: quantitative identification of spatiotemporal pattern genes. Bioinformatics, 2012, 28(11): 1544-1545.
- [26] 唐婧. 基于土壤微生物群落的喀斯特石漠化分子机制研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2018.
- [27] Dong X L, Reddy G B. Soil bacterial communities in constructed wetlands treated with swine wastewater using PCR-DGGE technique. Bioresource Technology, 2010, 101(4): 1175-1182.
- [28] 李先琨, 何成新, 蒋忠诚. 岩溶脆弱生态区生态恢复、重建的原理与方法. 中国岩溶, 2003, 22(1): 12-17.
- [29] 濮阳雪华, 王月玲, 赵志杰, 黄娟, 杨宇. 陕北黄土区不同植被恢复模式植被与土壤耦合关系研究. 草业学报, 2021, 30(5): 13-24.
- [30] 徐春光, 乌仁其其格, 柴会祥. 退化草地土壤微生物与土壤理化因子的相关性分析. 呼伦贝尔学院学报, 2020, 28(3): 61-68.
- [31] 周静, 袁华明, 李佳泳, 张炜, 龙汉利, 李晓清, 陈忠. 杉木-光皮桦混交林对微生物量碳氮与酶活性的影响. 东北林业大学学报, 2015, 43(3): 83-86, 123-123.
- [32] Zhou L L, Shalom A D D, Wu P F, Li S B, Jia Y Y, Ma X Q. Litterfall production and nutrient return in different-aged Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) plantations in South China. Journal of Forestry Research, 2015, 26(1): 79-89.
- [33] 李树斌, 周丽丽, 陈宝英, 杨起帆, 丁国昌, 林思祖. 亚热带树种转换对林地土壤碳氮磷计量比的影响. 森林与环境学报, 2019, 39(6): 575-583.
- [34] 何红娟, 廖冬, 黎承梅, 张丽微, 隆卫革, 马英玲, 谭丽凤. 桉树、大叶栎和马尾松人工林土壤有机质含量和 pH 值比较. 河池学院学报, 2018, 38(2): 27-32.
- [35] 段文标, 冯静, 陈立新. 阔叶红松混交林不同大小林隙土壤含水量的时空异质性. 林业科学研究, 2012, 25(3): 385-393.
- [36] Bödeker I T M, Lindahl B D, Olson Å, Clemmensen K E. Mycorrhizal and saprotrophic fungal guilds compete for the same organic substrates but affect decomposition differently. Functional Ecology, 2016, 30(12): 1967-1978.
- [37] 吴求生, 龙健, 李娟, 廖洪凯, 刘灵飞, 吴劲楠, 肖雄. 茂兰喀斯特森林小生境类型对土壤微生物群落组成的影响. 生态学报, 2019, 39(3): 1009-1018.
- [38] 张坤, 包维楷, 杨兵, 胡斌. 林下植被对土壤微生物群落组成与结构的影响. 应用与环境生物学报, 2017, 23(6): 1178-1184.
- [39] 沈芳芳, 刘影, 罗昌泰, 刘文飞, 段洪浪, 廖迎春, 吴春生, 樊后保. 陆地生态系统植物和土壤微生物群落多样性对全球变化的响应与适应研究进展. 生态环境学报, 2019, 28(10): 2129-2140.
- [40] 徐倩. 青藏高原高寒草地土壤细菌共现网络——植物多样性和生境的影响[D]. 南京: 南京大学, 2020.
- [41] Beinförde C, Feldberg K, Nylander 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.
- [42] 叶莹莹, 刘淑娟, 张伟, 舒世燕, 杨珊, 王克林. 喀斯特峰丛洼地植被演替对土壤微生物生物量碳、氮及酶活性的影响. 生态学报, 2015, 35(21): 6974-6982.
- [43] Martínez-García L B, Pugnaire F I. Arbuscular mycorrhizal fungi host preference and site effects in two plant species in a semiarid environment. Applied Soil Ecology, 2011, 48(3): 313-317.
- [44] 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.
- [45] 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.
- [46] Ladygina N, Hedlund K. Plant species influence microbial diversity and carbon allocation in the rhizosphere. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(2): 162-168.