

DOI: 10.5846/stxb202206071619

孟兆云, 李敏, 杨勋爵, 吕桂芬, 牛艳芳, 张亚萍. 寒温带地区典型森林类型中外生菌根真菌多样性和群落组成及其影响因素. 生态学报, 2023, 43(1): 38-47.

Meng Z Y, Li M, Yang X J, Lü G F, Niu Y F, Zhang Y P. Diversity, community composition and influencing factors of ectomycorrhizal fungi in typical forest types in cold temperate regions. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(1): 38-47.

寒温带地区典型森林类型中外生菌根真菌多样性和群落组成及其影响因素

孟兆云^{1,2}, 李 敏^{1,2,*}, 杨勋爵^{1,2}, 吕桂芬^{1,2}, 牛艳芳^{1,2}, 张亚萍^{1,2}

1 内蒙古师范大学生命科学与技术学院, 呼和浩特 010022

2 内蒙古自治区高等学校生物多样性保护与可持续利用重点实验室, 呼和浩特 010022

摘要: 外生菌根 (ECM) 真菌可促进宿主植物对土壤中水分和营养的吸收, 提高宿主植物的抗逆性及对环境的适应, 在森林生态系统的物质循环中发挥了重要作用。为探明寒温带地区 ECM 真菌多样性和群落组成以及土壤理化因子对真菌群落组成的可能影响机制, 采用高通量测序 (Illumina Miseq) 平台对大兴安岭 4 种典型森林类型白桦、樟子松、兴安落叶松和偃松的根围土壤 ECM 真菌群落组成进行了分析。结果表明, 4 种典型森林类型根围土壤中共获得 167 个 ECM 真菌可操作分类单元 (OTUs), 隶属于 2 个门、4 个纲、10 个目、24 个科、36 个属。在门水平上, 担子菌门 (Basidiomycota) 真菌的相对丰度占 96.4%, 子囊菌门 (Ascomycota) 真菌占 3.6%。在属水平上, 红菇属 (*Russula*, 30.2%)、丝膜菌属 (*Cortinarius*, 17.1%)、*Piloderma* (9.6%)、棉革菌属 (*Tomentella*, 7.2%)、丝盖伞属 (*Inocybe*, 7.2%) 和蜡壳耳属 (*Sebacina*, 6.2%) 的相对丰度均 > 5.0%, 是该地区的优势 ECM 真菌类群。不同森林类型的优势 ECM 真菌在属水平上的组成存在显著差异。土壤理化因子共解释了不同森林类型 ECM 真菌群落变异的 92.4%, 其中硝态氮、土壤总氮和土壤 pH 值对 ECM 真菌群落组成均有显著影响, 解释度分别为 60.4%、10.6% 和 9.5%。研究结果为认识寒温带森林生态系统中 ECM 真菌的群落组成与功能提供了依据。

关键词: 外生菌根真菌; 群落组成; 森林类型; 高通量测序

Diversity, community composition and influencing factors of ectomycorrhizal fungi in typical forest types in cold temperate regions

MENG Zhaoyun^{1,2}, LI Min^{1,2,*}, YANG Xunjue^{1,2}, LÜ Guifen^{1,2}, NIU Yanfang^{1,2}, ZHANG Yaping^{1,2}

1 College of Life Science and Technology, Inner Mongolia Normal University, Huhhot 010022, China

2 Key Laboratory of Biodiversity Conservation and Sustainable Utilization for College and University of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010022, China

Abstract: Ectomycorrhiza (ECM) fungi can promote the water and nutrients absorption in the soil and improve the stress resistance of host plants, and play an important role in the material cycle of forest ecosystems. In order to explore the ECM fungal diversity and community composition and the possible influence mechanisms of soil physicochemical factors on the ECM fungi in cold temperate regions, the Illumina Miseq high-throughput sequencing platform was used to analyze the ECM fungal community composition of four typical forest types in the Greater Xing'an Mountains, including *Betula platyphylla*, *Pinus sylvestris* var. *mongolica*, *Larix gmelinii*, and *Pinus pumila*. The results showed that a total of 167 ECM fungal operational taxonomic units (OTUs) were obtained from the rhizosphere soil of the four typical forest types, belonging to

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31760169); 内蒙古自治区自然科学基金面上项目 (2017MS0310); 内蒙古师范大学基本科研业务费专项资金项目 (2022JBXC016); 内蒙古师范大学研究生科研创新基金资助项目 (CXJJS22120)

收稿日期: 2022-06-07; **采用日期:** 2022-09-13

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: limin_8123@126.com

2 phyla, 4 classes, 10 orders, 24 families, and 36 genera. At the phylum level, the relative abundance of Basidiomycota fungi accounted for 96.4%, and Ascomycota fungi accounted for 3.6%. At the genus level, *Russula* (30.2%), *Cortinarius* (17.1%), *Piloderma* (9.6%), *Tomentella* (7.2%), *Inocybe* (7.2%), and *Sebacina* (6.2%) were all over 5.0% in relative abundance, which were the dominant ECM fungal taxa in this area. There were significant differences in the composition of dominant ECM fungi at the genus level in different forest types. Soil physicochemical factors explained 92.4% of the ECM fungal community variation, among which nitrate nitrogen, soil total nitrogen, and soil pH had significant effects on the ECM fungal community composition, with explanatory degrees of 60.4%, 10.6% and 9.5%, respectively. The results provide a basis for understanding the community composition and functions of ECM fungi in cold temperate forest ecosystems.

Key Words: ectomycorrhizal fungi; community composition; forest type; high-throughput sequencing

外生菌根(ECM)真菌常与林木互惠共生,促进宿主植物对氮、磷、钾等多种营养元素的吸收,并增强植物的抗病、抗寒、抗盐及抗重金属能力以及对极端环境的适应能力^[1-4];同时宿主植物提供给 ECM 真菌光合产物等物质以供其生长^[5]。由于 ECM 真菌的这些关键功能,森林树木在自然条件下很大程度上依赖于 ECM 真菌类群。因此,ECM 真菌被认为是温带森林生态系统的关键组成部分。在长期的生态系统演化过程中,植物与真菌之间相互选择与适应,导致了 ECM 真菌与宿主植物之间存在一定的专一性。但 ECM 真菌与植物的共生关系可以超越单一的树-真菌伙伴关系,形成共同的菌根网络^[6-7]。同一宿主植物可与多种不同的 ECM 真菌共生,同一 ECM 真菌也可与多种植物共生。由于菌根网络同时连接了多个不同个体的宿主植物和 ECM 真菌,因此对提高生态系统的生产力和增加资源利用互补性有重要作用^[8-9]。ECM 真菌与宿主植物的相互作用在整个陆生植物进化过程中扮演了重要角色,强烈影响着森林生态系统的功能^[3,9-11]。ECM 真菌的物种及功能多样性是维持生态系统稳定性的重要因素^[12-13]。

由于 ECM 真菌需从宿主植物获得赖以生存的有机碳源,因此宿主植物被认为是影响 ECM 真菌群落组成的最重要的决定因素^[14-17]。而对欧洲山毛榉(*Fagus sylvatica*)的研究发现,非宿主植物的灌木层和草本层对 ECM 真菌的分布有显著影响^[18]。也有一些研究表明,宿主植物对 ECM 真菌群落没有影响或影响很小^[19-20]。同样,也有研究者报道,包括土壤和气候变量在内的非生物环境因素是 ECM 真菌群落的强大驱动力。例如,气候差异和土壤养分解释了日本两座山区^[20]和美国明尼苏达州东南部的七种柳树^[21]中 ECM 真菌群落的差异。Ge 等认为美国山核桃的 ECM 真菌群落受土壤中的 K、Ca、Mg、Mn、P、Zn 等矿物质的影响较大^[22]。Koizumi 等认为温度是构建 ECM 真菌群落的重要决定因素^[23]。在气候变化的背景下,ECM 真菌群落多样性会发生相应的变化,譬如全球变暖和长期氮沉降会导致 ECM 真菌群落多样性的降低^[24-25]。Gong 等认为,ECM 真菌群落不同海拔区域和季节间存在强烈的物种替代和显著的组成差异,ECM 真菌多样性在森林区域随海拔升高而降低^[26]。上述研究表明,在不同的地理尺度上,ECM 真菌多样性变化的关键驱动因子有所不同。因此,明确 ECM 真菌的物种多样性及其群落构建的影响因素对指导森林生态系统的健康可持续发展以及预测环境变化对生态系统的潜在影响具有重要意义。

白桦(*Betula platyphylla*)、樟子松(*Pinus sylvestris* var. *mongolica*)、兴安落叶松(*Larix gmelinii*)和偃松(*Pinus pumila*)均耐寒,是我国寒温带地区的常见树种,对森林和人类的生物多样性做出了重大的生态和经济贡献。它们都是典型的 ECM 依赖型树种,而对该地区的 ECM 真菌多样性及群落组成的认识非常有限。因此,本研究采用高通量测序技术,分析了寒温带地区 4 种典型森林类型的 ECM 真菌多样性,同时通过分析土壤理化性质对 ECM 真菌群落组成的影响,确定了导致 ECM 真菌群落变化的主要驱动因素。本研究的目标是:(1)明确寒温带地区 4 种典型森林类型的 ECM 真菌多样性和群落组成;(2)明确 ECM 真菌多样性和群落组成的主要驱动因素;(3)明确植物-ECM 真菌相互作用中宿主和 ECM 真菌的偏好。本研究假设:(1)土壤因子在构建 ECM 真菌群落中发挥了重要作用;(2)ECM 真菌和宿主植物间存在显著的偏好性。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于大兴安岭北麓根河市,年封冻期 210 天以上,年平均气温 -5.3°C 。白桦土样采自内蒙古大兴安岭森林生态系统国家野外观测研究站($50^{\circ}54'12.81''\text{E}$, $121^{\circ}29'46''\text{N}$, 海拔 848 m);偃松土样采自静岭($51^{\circ}2'35''\text{E}$, $121^{\circ}17'43''\text{N}$, 海拔 1034 m);樟子松土样采自好里堡东山($50^{\circ}45'3.40''\text{E}$ — $50^{\circ}45'3.84''\text{E}$, $121^{\circ}29'01''\text{N}$ — $121^{\circ}29'14.68''\text{N}$, 海拔 685—795 m)阳坡;兴安落叶松土样采自好里堡东山阴坡。林下土壤均为淋溶土(棕壤土)。针叶林下层几乎没有维管植物,白桦林的下层植被包括稀疏的灌木、草本植物和蕨类植物。

1.2 采样方法

土样采集于 2018 年 8 月 5—7 日,采样方法同前期研究^[27]。在 4 种不同森林类型内,各随机设置 3 个 50 m $\times$ 50 m 的样地。每个样地内收集 10 棵健康树木的土样。采集土样后置于冰盒保存,尽快带回实验室用于土壤理化性质的检测及高通量测序。

1.3 土壤理化性质的测定

土壤 pH 值测定采用电位法(水土比 2.5:1);土壤含水量(WC)测定采用烘干法;土壤全氮(TN)和土壤有机质(SOM)含量测定分别采用重铬酸钾氧化法和半微量凯氏定氮法测定;土壤有效磷(AP)和速效钾(AK)含量测定分别采用钼锑抗比色法和乙酸铵浸提-火焰光度法;土壤铵态氮和硝态氮含量测定分别采用靛酚蓝比色法(2 mol/L 氯化钾(KCl)浸提)和紫外分光光度法^[28]。

1.4 土壤总 DNA 提取和高通量测序

使用 PowerSoil[®] DNA Isolation Kit 提取土壤微生物 DNA,选用真菌 ITS5F(5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3')和 ITS1R(5'-GCTGCGTTCTTC-ATCGATGC-3')为特异性引物,进行真菌 rDNA ITS 区段 PCR 扩增。扩增完成后,对 PCR 产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,并采用 Axygen 凝胶回收试剂盒回收 PCR 产物。2% 琼脂糖凝胶电泳检测合格后,采用 Illumina Miseq 平台上进行 2 $\times$ 300 bp 的双端测序。文库构建、检测、上机测序等委托上海派森诺生物科技股份有限公司完成。测序完成后,筛选有效序列,去除 Reads 接头和 barcode 序列,并用 FLASH 软件对原始数据进行过滤,采用 Usearch(version 7.0 <http://drive5.com/uparse/>)去除嵌合体序列,并对有效序列进行数据统计。

1.5 数据分析

使用 QIIME 软件,调用 UCLUST 序列比对工具,对获得的序列按 97% 的序列相似度进行归并和可操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)的划分,并选取每个 OTU 中丰度最高的序列作为该 OTU 的代表序列,采用 BLAST 工具在 UNITE 数据库(Release 5.0, <https://unite.ut.ee/>)中对 ECM 真菌 OTUs 进行物种注释,分别在不同分类水平上统计各样本的群落组成和丰度。所有的 ECM 真菌 OTUs 需经均一化处理。通过 Galaxy 在线分析平台(<http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy/>),对属水平的相对丰度矩阵进行 LEfSe 分析。使用 R 软件进行 ECM 真菌属水平的群落组成的主成分分析(PCA);ECM 真菌群落 Alpha 多样性指数的分析使用 QIIME 软件完成;采用 SPSS 22.0 软件完成 ECM 真菌丰度及土壤理化性质的 Pearson 相关性分析及显著性检验。利用 Canoco(version 5.0)软件对土壤理化性质与 ECM 真菌群落组成进行冗余分析(db-RDA)。

2 结果与分析

2.1 不同森林类型中 ECM 真菌多样性和群落组成

4 种典型森林类型根围土壤中共获得 167 个 ECM 真菌 OTUs(图 1)。兴安落叶松的 ECM 真菌 OTUs 数最多,为 84 个;其次是白桦,为 54 个;偃松和樟子松最低,分别为 38 个、37 个。4 个树种的特有 ECM 真菌 OTUs 数分别为 54 个、29 个、18 个和 32 个。兴安落叶松的特有 ECM 真菌 OTUs 数占有 ECM 真菌 OTUs 数的比

例最高,为 32.34%;其次为樟子松和白桦,分别占 19.16%和 17.37%;偃松最低,为 10.78%。4 个树种的共有 ECM 真菌 OTUs 仅有 2 个,占有 ECM 真菌 OTUs 的 1.20%,隶属于丝膜菌属 (*Cortinarius*) 和红菇属 (*Russula*)。以上结果说明,不同森林类型的 ECM 真菌多样性有显著差异,树种对 ECM 真菌群落组成有显著影响。

所有 ECM 真菌隶属于 2 个门、4 个纲、10 个目、24 个科、36 个属。在门水平上,担子菌门 (Basidiomycota) 真菌的相对丰度占 96.4%,子囊菌门 (Ascomycota) 真菌的相对丰度占 3.6%。在纲水平上,蘑菇纲 (Agaricomycetes) 真菌的相对丰度最高,为 96.4%,其次分别为座囊菌纲 (Dothideomycetes, 1.4%)、锤舌菌纲 (Leotiomycetes, 1.2%) 和盘菌纲 (Pezizomycetes, 1.0%) 真菌。在目水平上,红菇目 (Russulales, 30.9%)、蘑菇目 (Agaricales, 28.8%)、蜡壳耳目 (Sebacinales, 12.6%)、阿太菌目 (Atheliales, 9.9%) 和革菌目 (Thelephorales, 8.6%) 真菌的相对丰度均 >5.0%。相对丰度 >5.0% 的科分别为红菇科 (Russulaceae, 30.9%)、丝膜菌科 (Cortinariaceae, 17.1%)、阿太菌科 (Atheliaceae, 9.9%)、革菌科 (Thelephoraceae, 8.6%)、蜡壳耳科 (Sebacinaceae, 8.0%) 和丝盖伞科 (Inocybaceae, 7.2%)。红菇属 (30.2%)、丝膜菌属 (17.1%)、*Piloderma* (9.6%)、棉革菌属 (*Tomentella*, 7.2%)、丝盖伞属 (*Inocybe*, 7.2%)、蜡壳耳属 (*Sebacina*, 6.2%) 的相对丰度均 >5.0%, 是该地区的优势 ECM 真菌类群 (图 2)。

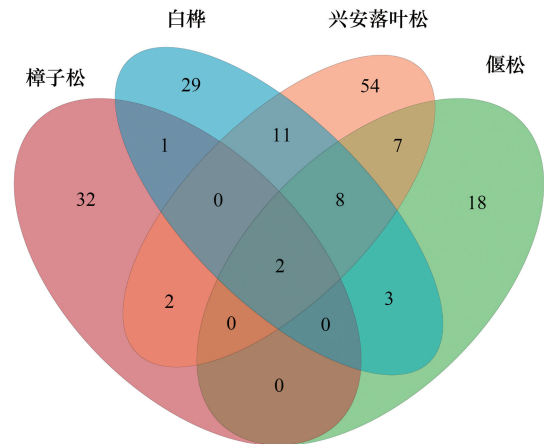


图 1 不同森林类型 ECM 真菌 OTUs 数量

Fig.1 The OTUs number in different forest types

白桦: *Betula platyphylla*, Bp; 樟子松: *Pinus sylvestris*, Ps; 兴安落叶松: *Larix gmelinii*, Lg; 偃松: *Pinus pumila*, Pp

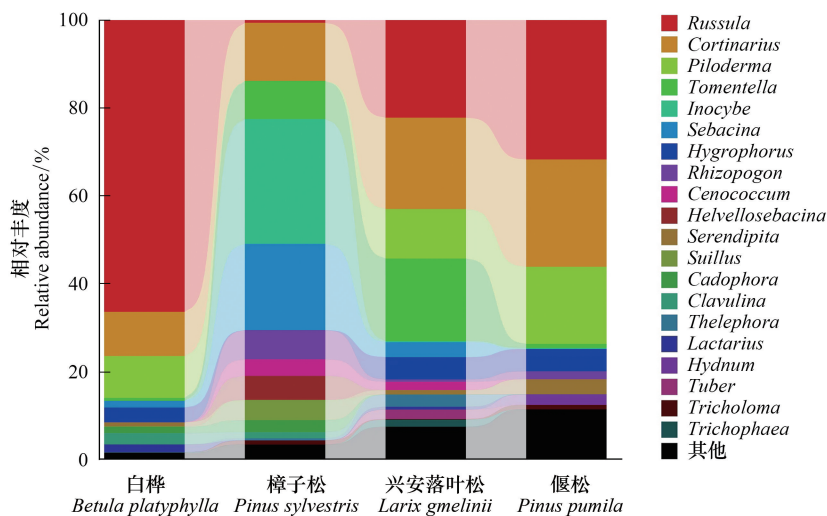


图 2 不同森林类型 ECM 真菌属水平的群落组成

Fig.2 The ectomycorrhizal fungal community composition on generic level in different forest types

2.2 不同森林类型 ECM 真菌群落组成差异

对 4 个不同森林类型 ECM 真菌优势属的分析表明 (表 1, 图 2), 红菇属的平均相对丰度最高 (30.2%), 但在不同森林类型间的差异显著, 白桦根围土壤中该属的相对丰度最高 (66.4%), 其次是偃松 (31.7%) 和兴安落叶松 (22.2%); 而樟子松根围土壤中该属真菌的相对丰度最低 (0.6%)。丝膜菌属真菌的相对丰度在不同森林类型间无显著差异, 分布较均匀。丝盖伞属在樟子松根围 (28.4%) 的相对丰度显著高于其它森林类型

表 1 不同森林类型外生菌根 (ECM) 真菌群落 (相对丰度前 20 个属) 组成

Table 1 Composition of Ectomycorrhizal fungal communities (top 20 genera in relative abundance) in different forest types								
优势门 Dominant phylum/%	优势纲 Dominant class/%	优势目 Dominant order/%	优势科 Dominant family/%	优势属 Dominant genera/%	树种 Tree species/%			
					白桦 Bp	樟子松 P_s	兴安落叶松 Lg	
担子菌门 Basidiomycota (93.7)	蘑菇纲 Agaricomycetes (93.7)	红菇目 Russulales (34.2)	红菇科 Russulaceae (30.8)	红菇属 Russula (30.2)	66.4a	0.6d	22.2c	31.7b
				乳菇属 Lactarius (0.6)	1.8a	0.0b	0.6b	0.0b
				蜡伞科 Hygrophoraceae (3.4)	3.3ab	0.0b	5.0a	5.1a
				丝膜菌科 Cortinariaceae (17.1)	10.1a	13.4a	20.8a	24.3a
		蘑菇目 Agaricales (24.8)	丝盖伞科 Inocybaceae (7.2)	丝盖伞属 Tricholoma (0.5)	0.0b	28.4a	0.3b	0.3b
				口蘑属 Sebacina (6.2)	0.0a	0.9a	0.1a	1.0a
				蜡壳耳科 Helvellosebacina (1.4)	1.5b	19.6a	3.4b	0.0c
				Sebacinaeae (7.6)	0.0b	5.4a	0.0b	0.0b
		蜡壳耳目 Sebacinales (12.1)	无孢蜡壳科 Serendipitaceae (4.5)	Serendipitaceae- unidentified (3.2)	0.8b	0.0b	3.0b	9.1a
				Serendipita (1.3)	0.9b	0.0b	1.0b	3.4a
				阿太菌科 Piloderma (9.6)	9.5a	0.0b	11.3a	17.6a
				Atheliaceae (9.6)	0.6c	8.6b	18.8a	0.9c
		革菌目 Thelephorales (8.0)	革菌科 Thelephoraceae (8.0)	棉革菌属 Tomentella (7.2)	0.0a	0.5a	2.8a	0.0a
				须腹菌科 Rhizopogonaceae (2.2)	0.0b	6.6a	0.5b	1.8b
				乳牛肝菌科 Suillaceae (1.2)	0.1b	4.6a	0.0b	0.0b
				锁瑚菌科 Clavulinaceae (1.0)	2.6a	1.4ab	0.0b	0.0b
		牛油菌目 Cantharellales (1.6)	齿菌科 Hydnaceae (0.6)	齿菌属 Hydnum (0.6)	0.0b	0.0b	0.0b	2.4a
				座囊菌纲 Dothideomycetes - ord -	0.0a	3.8a	1.9a	0.0a
				Dothideomycetes (1.4)	1.4ab	2.7a	0.0b	0.0b
				座囊菌纲 Dothideomycetes (1.4)	0.0a	0.0a	2.2a	0.0a
子囊菌门 Ascomycota (2.9)	座囊菌纲 Dothideomycetes (1.4)	柔膜菌目 Helotiales (1.0)	块菌属 Tuber (0.5)	99.2	93.9	97.6		
		盘菌纲 Leotiomycetes (1.0)						
		盘菌目 Pezizales (0.5)						
		所有属 All genera/%	100.4b	99.2	93.9	97.6		

扩号中的数字表示其占所有 ECM 真菌的百分比;优势属后所标字母代表样地内所有优势属的相对丰度的差异显著性检验,而各样地优势属后所标字母代表对该属在不同样地间的相对丰度的差异显著性检验;Bp:白桦, *Betula platyphylla*;Ps:樟子松, *Pinus sylvestris*;Lg:兴安落叶松, *Larix gmelinii*;Pp:偃松, *Pinus pumila*

(0.0%—0.3%)。白桦(9.5%)、兴安落叶松(11.3%)和偃松(17.6%)根围的 *Piloderma* 的相对丰度均较高,而樟子松根围没有发现该属真菌的 OTUs。蜡壳耳属真菌在樟子松根围的相对丰度(19.6%)显著高于白桦(1.5%)和兴安落叶松(3.4%),而偃松根围并未发现该属真菌的 OTUs。兴安落叶松(18.8%)根围土壤中棉革菌属的相对丰度显著高于樟子松(8.6%),白桦(0.6%)和偃松(0.9%)根围土壤中该属真菌的相对丰度显著低于上述二者。

还有部分 ECM 真菌属是某种森林类型的特有属,如 *Helvellosebacina* 属真菌的 OTUs 只出现在樟子松根围,齿菌属(*Hydnum*)真菌的 OTUs 只出现在偃松根围,块菌属(*Tuber*)真菌的 OTUs 只出现在兴安落叶松根围。对 4 个不同森林类型 ECM 真菌的 LEfSe 物种差异分析(图 3)表明,白桦根围的红菇属、兴安落叶松的棉革菌属、偃松的 *Serendipita* 和樟子松的丝盖伞属、蜡壳耳属和须腹菌属(*Rhizopogon*)均是差异指示物种。以上结果表明,不同树种的优势 ECM 真菌在属水平上的组成存在显著差异。

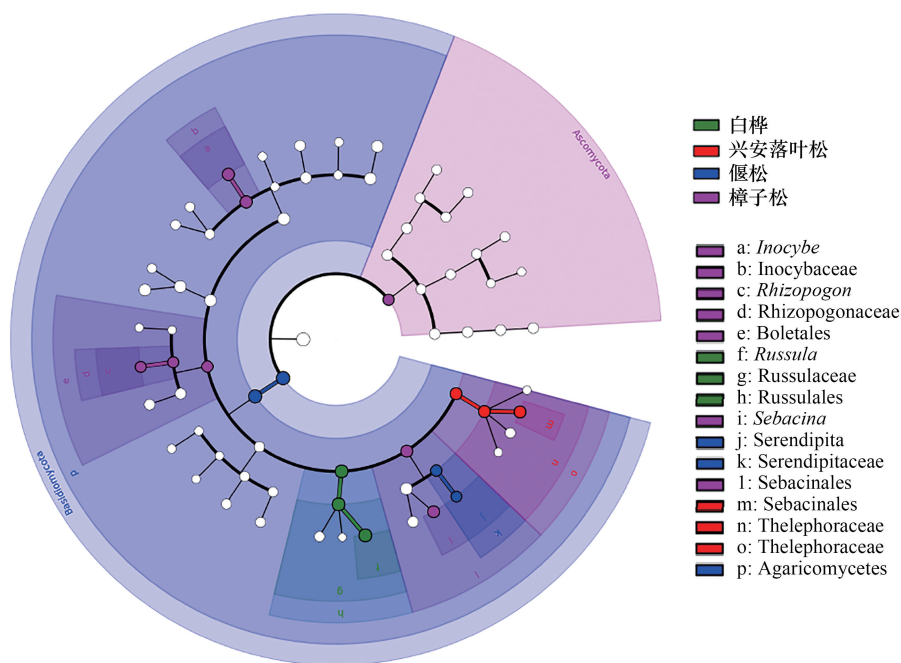


图 3 不同森林类型 ECM 真菌 LEfSe 物种差异分析

Fig.3 LEfSe species difference analysis in different forest types

2.3 土壤理化因子对 ECM 真菌群落组成的可能影响机制

土壤理化因子对 ECM 真菌群落有显著影响(表 2,图 4)。所有因子共解释了 ECM 真菌群落变异的 92.4%,其中硝态氮的解释度最高(60.4%),其次分别为土壤总氮(10.6%)和 pH(9.5%),这 3 个因子对 ECM 真菌群落组成均有极显著影响(表 2)。

表 2 土壤理化因子对 ECM 真菌群落组成的冗余分析

土壤理化性质 Soil physical and chemical properties	差异解释度/% Variance explained	P	土壤理化性质 Soil physical and chemical properties	差异解释度/% Variance explained	P
NN	60.4	0.002	AK	2.4	0.354
TN	10.6	0.002	SOM	1.9	0.490
pH	9.5	0.006	WC	1.5	0.654
AP	4.0	0.142	AN	2.1	0.502

NN:硝态氮 Nitrate nitrogen; TN:土壤全氮 total nitrogen; AP:土壤有效磷 Available phosphorus; AK:速效钾 Available potassium; SOM:土壤有机质 soil organic matter; WC:含水量 Water content; AN:铵态氮 Ammonium nitrogen

冗余分析表明(图4), ECM 真菌受土壤理化性质的显著影响, 如口蘑属(*Tricholoma*)、空团菌属(*Cenococcum*)、须腹菌属、蜡壳耳属、丝盖伞属、乳牛肝菌属(*Suillus*)等更适宜栖息在干旱、高 pH 的森林土壤中; *Serendipita*、齿菌属、蜡伞属(*Hygrophorus*)、*Piloderma*、革菌属和棉革菌属在相对肥沃(高有机质、高氮)的森林土壤中的相对丰度更高; 而丝膜菌属、块菌属和锁瑚菌属(*Clavulina*)对环境的依赖性并不明显。

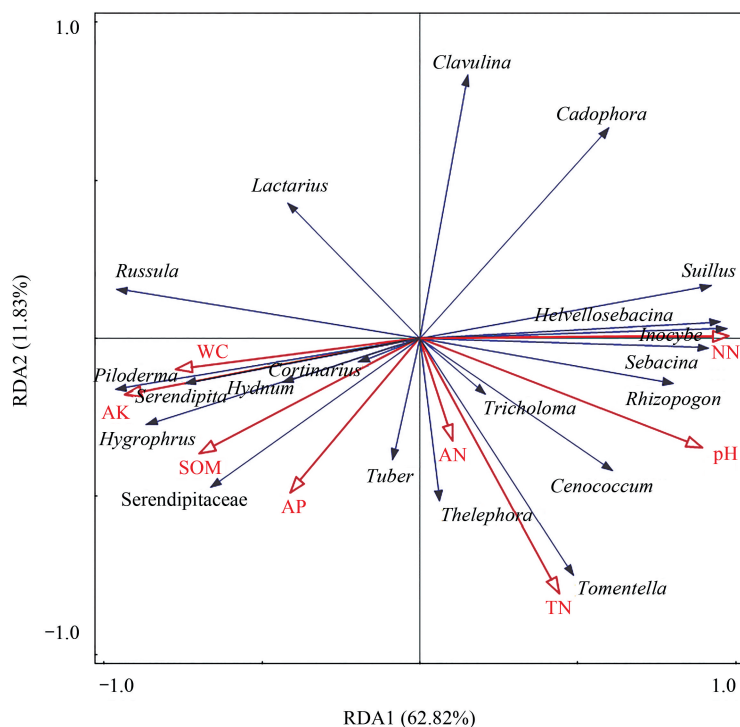


图4 ECM 真菌群落组成(属水平)与土壤理化因子的冗余分析(RDA)

Fig.4 Redundancy analysis (RDA) of ECM fungi community composition (generic level) and soil factors

NN:硝态氮 Nitrate nitrogen; TN:土壤全氮 total nitrogen; AP:土壤有效磷 Available phosphorus; AK:速效钾 Available potassium; SOM:土壤有机质 soil organic matter; WC:含水量 Water content; AN:铵态氮 Ammonium nitrogen

3 讨论

3.1 不同森林类型 ECM 真菌多样性及群落组成

菌根真菌是植物共生微生物的主要组成部分,白桦、樟子松、兴安落叶松和偃松是大兴安岭寒温带地区的常见树种,是典型的 ECM 依赖型树种。ECM 真菌与植物的共生对提高生态系统的生产力和增加资源利用互补性有重要作用^[7-8,10,12]。本研究结果表明,不同森林类型土壤中均有较高的 ECM 真菌多样性,其中担子菌门真菌的相对丰度占 96.4%,子囊菌门真菌占 3.6%。此结果与大多数在森林生态系统中的研究结果一致,形成 ECM 的真菌多数为担子菌门真菌,少数为子囊菌门真菌^[29]。由于森林土壤中存在较厚的凋落物层,担子菌门真菌在土壤中的优势地位可能与它们降解复杂木质纤维素组分的能力有关^[30]。

寒温带地区 4 种典型森林类型的特有 ECM 真菌 OTUs 数占有 ECM 真菌 OTUs 数的 10.78%—32.34%; 而共有 ECM 真菌 OTUs 仅有 2 个,占有 ECM 真菌 OTUs 的 1.20%; 另外不同森林类型的优势 ECM 真菌在属水平上的组成存在显著差异;说明 ECM 真菌与树种间存在选择偏好性,ECM 真菌群落组成受宿主植物的显著影响,与本研究提出的假设一致。

研究表明,菌根真菌更直接地依赖于树木凋落物,由于不同森林类型凋落物的化学成分不同^[31],引起凋落物的分解速率不同,由此导致不同林分土壤有机碳等含量不同^[32-33]。凋落物性质的不同为 ECM 真菌提供

了不同的生态位和可利用资源^[34],因此 ECM 真菌群落组成受森林植物群落的显著影响^[35]。另外,由于针叶林下层几乎没有维管植物凋落物,因此针叶林凋落物分解速率相对阔叶林显著降低^[32];同时针叶林凋落物层一般具有较高的碳氮比,可能会造成某些 ECM 真菌的不利生长条件^[36]。相比之下,较开阔的白桦林的下层植被包括稀疏的矮灌木、草本植物和蕨类植物。因此在白桦林下土壤中观察到的 ECM 真菌群落相对于樟子松林和偃松林更丰富。

本研究中,除丝膜菌属真菌的相对丰度在不同森林类型的土壤中分布较均匀外,其余相对丰度>5.0%的优势菌如红菇属、*Piloderma*、棉革菌属、丝盖伞属和蜡壳耳属真菌在不同森林类型土壤中的丰度差异显著,可能是由于不同真菌的定植策略和资源需求各不相同,另外可能与植物在不同生长阶段对不同功能性真菌存在不同程度的偏好性有关^[37]。丝膜菌属中的几种物种已被证明可以产生锰-过氧化物酶结合物,从而能够从复杂的有机物中分解获得氮^[38]。本研究中,具有凋落物分解活性的丝膜菌属的丰富度较高,且在樟子松、兴安落叶松和偃松的相对丰度比白桦高,这与丝膜菌属真菌通常在较老的针叶林中占主导地位的研究结果一致^[39]。本研究表明,红菇属真菌在寒温带针、阔叶林中的丰度都很高,与 Danielsen 等^[40]和 Mundra 等^[37]的研究结果一致。红菇属是北温带森林的成熟林中最为常见的 ECM 真菌类群之一,可能由于红菇属真菌具有更好的养分获取策略及高效的能分解获得氮和磷的酶系统而具有竞争优势^[39]。综上,不同森林类型对 ECM 真菌群落具有较强的选择性,而这些 ECM 真菌群落形成的菌根共生网络又为宿主植物提供所需的营养和水分,双方互惠共生,共同维持森林生态系统的健康发展。

3.2 土壤因子在构建 ECM 真菌群落中的贡献

ECM 真菌群落组成除受树种的影响外,还受到土壤理化性质的显著影响。本研究中不同森林类型土壤理化性质均存在显著差异,是由于植物凋落物和根系中含有大量的有机物,经微生物的分解后,改变了土壤理化性质,从而显著影响了 ECM 真菌群落组成。硝态氮、土壤总氮和 pH 对 ECM 真菌群落组成均有极显著影响,反映出 ECM 真菌群落组成受土壤因子的显著影响,与本研究提出的假设一致。硝态氮对 ECM 真菌群落变异的解释度最高,为 60.4%;其次分别为土壤总氮(10.6%)和 pH(9.5%)。土壤硝态氮含量与红菇属、*Piloderma* 等 ECM 真菌的丰富度均呈显著负相关,是由于 ECM 真菌群落的生长吸收了土壤中的氮素,显著降低了根围土壤中氮的含量^[41]。土壤硝态氮含量显著影响了土壤 pH,也可能是造成 ECM 真菌群落组成差异的原因^[42]。土壤 pH 与红菇属、*Piloderma* 等 ECM 真菌的丰富度均呈显著负相关,这是由于 ECM 真菌群落在生长繁殖中产生了大量的有机酸,从而降低了土壤 pH 值^[43];同时,土壤 pH 通过影响土壤基质的组成、化学性质从而显著改变了土壤理化性质,进而对 ECM 真菌群落组成产生显著影响。

本研究中,丝膜菌属真菌的相对丰度随土壤有机质含量的增加而增加,与 Koizumi 等的研究结果一致^[23],与其分泌大量的过氧化物酶、从而能够有效分解有机物有关^[38]。乳牛肝菌属真菌是典型的营养贫乏地区的优势菌^[44],支持了本研究中乳牛肝菌属更广泛地分布在土壤有机质含量低的樟子松林下的结果。本研究中,*Piloderma* 真菌在较低的土壤 pH 值、低硝态氮环境中更丰富,与 Peltoniemi 等^[45]、Högberg 等^[46]以及本课题组^[47]前期的研究结果一致。研究表明,*Piloderma* 真菌具有产生酸性磷酸酶的巨大潜力,能够释放有机磷并提供给宿主植物^[48—49],暗示了 *Piloderma* 真菌可能在营养贫乏地区的森林生态系统的关键营养循环中发挥了重要作用。

温度是构建 ECM 真菌群落的重要决定因素^[24,44],表明 ECM 真菌物种的分布与其固有的温度生态位相对应。研究表明,ECM 真菌群落可能是生态系统对温度变化恢复能力的关键,可能减轻全球变暖的影响^[44,50]。本研究分析了寒温带森林生态系统中的 ECM 真菌多样性及群落组成,能够为建立关于 ECM 真菌群落如何响应全球生态系统环境变化的假设提供基础。

4 结论

本研究分析了寒温带 4 种典型森林类型 ECM 真菌多样性和群落组成,并分析了土壤因子在 ECM 真菌群

落构建中的贡献。4 种典型森林类型均具有较丰富的 ECM 真菌多样性,担子菌门真菌占绝对优势,红菇属、丝膜菌属、*Piloderma*、棉革菌属、丝盖伞属和蜡壳耳属真菌是该地区的优势 ECM 真菌类群。不同森林类型的优势 ECM 真菌组成存在显著差异。硝态氮、土壤总氮和土壤 pH 值对 ECM 真菌群落组成均有极显著影响,说明树种及土壤因子对 ECM 真菌群落组成均有显著影响。

参考文献 (References):

- [1] Coban O, De Deyn G B, Van Der Ploeg M. Soil microbiota as game-changers in restoration of degraded lands. *Science*, 2022, 375 (6584): eabe0725.
- [2] Vishwanathan K, Zienkiewicz K, Liu Y, Janz D, Feussner I, Polle A, Haney C H. Ectomycorrhizal fungi induce systemic resistance against insects on a nonmycorrhizal plant in a CERK1-dependent manner. *New Phytologist*, 2020, 228 (2): 728-740.
- [3] Shah F, Nicolás C, Bentzer J, Ellström M, Smits M, Rineau F, Canbäck B, Floudas D, Carleer R, Lackner G, Braesel J, Hoffmeister D, Henrissat B, Ahrén D, Johansson T, Hibbett D S, Martin F, Persson P, Tunlid A. Ectomycorrhizal fungi decompose soil organic matter using oxidative mechanisms adapted from saprotrophic ancestors. *New Phytologist*, 2016, 209 (4): 1705-1719.
- [4] Sa G, Yao J, Deng C, Liu J, Zhang Y A, Zhu Z M, Zhang Y H, Ma X J, Zhao R, Lin S Z, Lu C F, Polle A, Chen S L. Amelioration of nitrate uptake under salt stress by ectomycorrhiza with and without a Hartig net. *New Phytologist*, 2019, 222 (4): 1951-1964.
- [5] Kiers E T, Duhamel M, Beesetty Y, Mensah J A, Franken O, Verbruggen E, Fellbaum C R, Kowalchuk G A, Hart M M, Bago A, Palmer T M, West S A, Vandenkoornhuyse P, Jansa J, Bücking H. Reciprocal rewards stabilize cooperation in the mycorrhizal symbiosis. *Science*, 2011, 333 (6044): 880-882.
- [6] Tedersoo L, Bahram M, Zobel M. How mycorrhizal associations drive plant population and community biology. *Science*, 2020, 367 (6480): eaba1223.
- [7] Cahanovitz R, Livne-Luzon S, Angel R, Klein T. Ectomycorrhizal fungi mediate belowground carbon transfer between pines and oaks. *The ISME Journal*, 2022, 16 (5): 1420-1429.
- [8] Simard S W, Beiler K J, Bingham M A, Deslippe J R, Philip L J, Teste F P. Mycorrhizal networks: mechanisms, ecology and modelling. *Fungal Biology Reviews*, 2012, 26 (1): 39-60.
- [9] Genre A, Lanfranco L, Perotto S, Bonfante P. Unique and common traits in mycorrhizal symbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18 (11): 649-660.
- [10] Soudzilovskaia N A, Van Bodegom P M, Terrer C, Van't Zelfde M, McCallum I, McCormack M L, Fisher J B, Brundrett M C, De Sù N C, Tedersoo L. Global mycorrhizal plant distribution linked to terrestrial carbon stocks. *Nature Communications*, 2019, 10: 5077.
- [11] 陈欢欢. 川西亚高山森林群落多样性和碳氮循环模式及其与菌根真菌关系. 北京: 中国林业科学研究院, 2019.
- [12] Tedersoo L, Bahram M, Pölme S, Kõljalg U, Yorou N S, Wijesundera R, Ruiz L V, Vasco-Palacios A M, Thu P Q, Suija A, Smith M E, Sharp C, Saluveer E, Saitta A, Rosas M, Riit T, Ratkowsky D, Pritsch K, Põldmaa K, Piepenbring M, Phosri C, Peterson M, Parts K, Pärtel K, Otsing E, Nouhra E, Njouonkou A L, Nilsson R H, Morgado L N, Mayor J, May T W, Majuakim L, Lodge D J, Lee S S, Larsson K H, Kohout P, Hosaka K, Hiiesalu I, Henkel T W, Harend H, Guo L D, Greslebin A, Grelet G, Geml J, Gates G, Dunstan W, Dunk C, Drenkhan R, Dearnaley J, De Kesel A, Dang T, Chen X, Buegger F, Brearley F Q, Bonito G, Anslan S, Abell S, Abarenkov K. Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, 2014, 346 (6213): 1256688.
- [13] Delgado-Baquerizo M, Reich P B, Trivedi C, Eldridge D J, Abades S, Alfaro F D, Bastida F, Berhe A A, Cutler N A, Gallardo A, García-Velázquez L, Hart S C, Hayes P E, He J Z, Hseu Z Y, Hu H W, Kirchmair M, Neuhauser S, Pérez C A, Reed S C, Santos F, Sullivan B W, Trivedi P, Wang J T, Weber-Grullon L, Williams M A, Singh B K. Multiple elements of soil biodiversity drive ecosystem functions across biomes. *Nature Ecology & Evolution*, 2020, 4 (2): 210-220.
- [14] Tedersoo L, Mett M, Ishida T A, Bahram M. Phylogenetic relationships among host plants explain differences in fungal species richness and community composition in ectomycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 2013, 199 (3): 822-831.
- [15] Wang Z H, Jiang Y, Deane D C, He F L, Shu W S, Liu Y. Effects of host phylogeny, habitat and spatial proximity on host specificity and diversity of pathogenic and mycorrhizal fungi in a subtropical forest. *New Phytologist*, 2019, 223 (1): 462-474.
- [16] Wu B W, Gao C, Chen L, Buscot F, Goldmann K, Purahong W, Ji N N, Wang Y L, Lü P P, Li X C, Guo L D. Host phylogeny is a major determinant of Fagaceae-associated ectomycorrhizal fungal community assembly at a regional scale. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2409.
- [17] Pölme S, Bahram M, Yamanaka T, Nara K, Dai Y C, Grebenc T, Kraigher H, Toivonen M, Wang P H, Matsuda Y, Naadel T, Kennedy P G, Kõljalg U, Tedersoo L. Biogeography of ectomycorrhizal fungi associated with alders (*Alnus* spp.) in relation to biotic and abiotic variables at the global scale. *New Phytologist*, 2013, 198 (4): 1239-1249.
- [18] Wubet T, Christ S, Schöning I, Boch S, Gawlich M, Schnabel B, Fischer M, Buscot F. Differences in soil fungal communities between European beech (*Fagus sylvatica* L.) dominated forests are related to soil and understory vegetation. *PLoS One*, 2012, 7 (10): e47500.
- [19] Glassman S I, Wang I J, Bruns T D. Environmental filtering by pH and soil nutrients drives community assembly in fungi at fine spatial scales. *Molecular Ecology*, 2017, 26 (24): 6960-6973.
- [20] Miyamoto Y, Sakai A, Hattori M, Nara K. Strong effect of climate on ectomycorrhizal fungal composition; evidence from range overlap between two mountains. *The ISME Journal*, 2015, 9 (8): 1870-1879.
- [21] Erlandson S R, Savage J A, Cavender-Bares J M, Peay K G. Soil moisture and chemistry influence diversity of ectomycorrhizal fungal communities

- associating with willow along an hydrologic gradient. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, 92(1): fiv148.
- [22] Ge Z W, Brenneman T, Bonito G, Smith M E. Soil pH and mineral nutrients strongly influence truffles and other ectomycorrhizal fungi associated with commercial pecans (*Carya illinoensis*). *Plant and Soil*, 2017, 418(1): 493-505.
- [23] Koizumi T, Nara K. Ectomycorrhizal fungal communities in ice-age relict forests of *Pinus pumila* on nine mountains correspond to summer temperature. *The ISME Journal*, 2020, 14(1): 189-201.
- [24] Miyamoto Y, Terashima Y, Nara K. Temperature niche position and breadth of ectomycorrhizal fungi: reduced diversity under warming predicted by a nested community structure. *Global Change Biology*, 2018, 24(12): 5724-5737.
- [25] Zhou Z H, Wang C K, Luo Y Q. Meta-analysis of the impacts of global change factors on soil microbial diversity and functionality. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 3072.
- [26] Gong S, Feng B, Jian S P, Wang G S, Ge Z W, Yang Z L. Elevation matters more than season in shaping the heterogeneity of soil and root associated ectomycorrhizal fungal community. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(1): e01950-21.
- [27] 李敏, 郝伟. 大兴安岭 4 个树种根围土壤细菌群落结构. *生态学杂志*. 2021, 40(7): 2057-2066.
- [28] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [29] Wang C Q, Xue L, Jiao R Z. Soil phosphorus fractions, phosphatase activity, and the abundance of *phoC* and *phoD* genes vary with planting density in subtropical Chinese fir plantations. *Soil and Tillage Research*, 2021, 209: 104946.
- [30] Lundell T K, Mäkelä M R, Hildén K. Lignin-modifying enzymes in filamentous basidiomycetes-ecological, functional and phylogenetic review. *Journal of Basic Microbiology*, 2010, 50(1): 5-20.
- [31] Chen L, Swenson N G, Ji N N, Mi X C, Ren H B, Guo L D, Ma K P. Differential soil fungus accumulation and density dependence of trees in a subtropical forest. *Science*, 2019, 366(6461): 124-128.
- [32] Kjønaas O J, Bården T G, Hølen G, Nordbakken J F, Økland T. Boreal tree species change as a climate mitigation strategy: impact on ecosystem C and N stocks and soil nutrient levels. *Ecosphere*, 2021, 12(11): e03826.
- [33] Urbanová M, Šnajdr J, Baldrian P. Composition of fungal and bacterial communities in forest litter and soil is largely determined by dominant trees. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 84: 53-64.
- [34] Chapman S K, Newman G S. Biodiversity at the plant-soil interface: microbial abundance and community structure respond to litter mixing. *Oecologia*, 2010, 162(3): 763-769.
- [35] Nguyen N H, Williams L J, Vincent J B, Stefanski A, Cavender-Bares J, Messier C, Paquette A, Gravel D, Reich P B, Kennedy P G. Ectomycorrhizal fungal diversity and saprotrophic fungal diversity are linked to different tree community attributes in a field - based tree experiment. *Molecular Ecology*, 2016, 25(16): 4032-4046.
- [36] Höglberg P, Näsholm T, Franklin O, Höglberg M N. Tamm Review: On the nature of the nitrogen limitation to plant growth in Fennoscandian boreal forests. *Forest Ecology and Management*, 2017, 403: 161-185.
- [37] Mundra S, Kausarud H, Økland T, Nordbakken J F, Ransedokken Y, Kjønaas O J. Shift in tree species changes the belowground biota of boreal forests. *New Phytologist*, 2022, 234(6): 2073-2087.
- [38] Bödeker I T M, Clemmensen K E, De Boer W, Martin F, Olson Å, Lindahl B D. Ectomycorrhizal *Cortinari* species participate in enzymatic oxidation of humus in northern forest ecosystems. *New Phytologist*, 2014, 203(1): 245-256.
- [39] Kyaschenko J, Clemmensen K E, Hagenbo A, Karlton E, Lindahl B D. Shift in fungal communities and associated enzyme activities along an age gradient of managed *Pinus sylvestris* stands. *The ISME Journal*, 2017, 11(4): 863-874.
- [40] Danielsen J S, Morgado L, Mundra S, Nybakken L, Davey M, Kausarud H. Establishment of spruce plantations in native birch forests reduces soil fungal diversity. *FEMS Microbiology Ecology*, 2021, 97(7): fiab074.
- [41] Yin C Y, Pu X Z, Xiao Q Y, Zhao C Z, Liu Q. Effects of night warming on spruce root around non-growing season vary with branch order and month. *Plant and Soil*, 2014, 380(1/2): 249-263.
- [42] Wang H, Liu S R, Zhang X, Mao Q G, Li X Z, You Y M, Wang J X, Zheng M H, Zhang W, Lu X K, Mo J M. Nitrogen addition reduces soil bacterial richness, while phosphorus addition alters community composition in an old-growth N-rich tropical forest in southern China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 127: 22-30.
- [43] Hedwall P O, Gruffman L, Ishida T, From F, Lundmark T, Näsholm T, Nordin A. Interplay between N-form and N-dose influences ecosystem effects of N addition to boreal forest. *Plant and Soil*, 2018, 423(1/2): 385-395.
- [44] Sterkenburg E, Bahr A, Durling M B, Clemmensen K E, Lindahl B D. Changes in fungal communities along a boreal forest soil fertility gradient. *New Phytologist*, 2015, 207(4): 1145-1158.
- [45] Peltoniemi K, Adamczyk S, Fritze H, Minkinen K, Pennanen T, Penttilä T, Sarjala T, Laiho R. Site fertility and soil water-table level affect fungal biomass production and community composition in boreal peatland forests. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(10): 5733-5749.
- [46] Höglberg M N, Yarwood S A, Myrold D D. Fungal but not bacterial soil communities recover after termination of decadal nitrogen additions to boreal forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 72: 35-43.
- [47] 李敏, 吕桂芬, 牛艳芳, 孟兆云, 杨勋爵. 内蒙古不同气候带白桦外生菌根真菌群落结构及影响因素. *生态学报*, 2022, 42(12): 4847-4860.
- [48] Velmala S M, Rajala T, Heinonsalo J, Taylor A F S, Pennanen T. Profiling functions of ectomycorrhizal diversity and root structuring in seedlings of Norway spruce (*Picea abies*) with fast- and slow-growing phenotypes. *New Phytologist*, 2014, 201(2): 610-622.
- [49] Heinonsalo J, Sun H, Santalahti M, Bäcklund K, Hari P, Pumpanen J. Evidences on the ability of mycorrhizal genus *Piloderma* to use organic nitrogen and deliver it to scots pine. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0131561.
- [50] 梁倩倩, 李敏, 刘润进, 郭绍霞. 全球变化下菌根真菌的作用及其作用机制. *生态学报*, 2014, 34(21): 6039-6048.