

DOI: 10.20103/j.stxb.202301190124

王雯颖, 徐宝珠, 胡佳瑶, 潘高, 刘文胜. 锰矿区大叶胡枝子灌丛土壤的丛枝菌根真菌多样性. 生态学报, 2024, 44(12): 5269-5279.

Wang W Y, Xu B Z, Hu J Y, Pan G, Liu W S. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the soil of *Lespedeza davidii* scrub in manganese mining area. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(12): 5269-5279.

锰矿区大叶胡枝子灌丛土壤的丛枝菌根真菌多样性

王雯颖, 徐宝珠, 胡佳瑶, 潘高, 刘文胜*

中南林业科技大学生命科学与技术学院, 长沙 410004

摘要: 大叶胡枝子 (*Lespedeza davidii*) 为一种豆科灌木, 具有较强耐受重金属胁迫及固氮能力, 也是矿区一种重要修复植物。丛枝菌根真菌 (Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) 是一类植物共生真菌, 它在矿区与植物共生可促进植物生长、提高植物的抗逆性; 但其种类、分布及其影响机制尚不够清楚。以大叶胡枝子灌丛土壤 AMF 群落为研究对象, 采集矿区与非矿区大叶胡枝子冠下及其相邻空旷地土壤进行内部转录间隔区 (ITS) 测序, 分析土壤理化性质, 揭示不同样地土壤 AMF 群落的多样性及其影响因素。研究结果表明: (1) 土壤样本共得到 2961 个可操作分类单元 (OTU), 其中属于 AMF 的 OTU 为 66 个; Silva 数据库比对发现 AMF 有 7 目 10 科 16 属 24 种。AMF 总体物种丰度为矿区相邻空旷地土壤 > 矿区冠下土壤 > 非矿区冠下土壤 > 非矿区相邻空旷地土壤, Shannon 指数和 Simpson 指数与该趋势保持一致。 (2) 矿区土壤 AMF 群落以内养囊霉属 (*Entrophospora*) 等为优势属, 非矿区冠下以斗管囊霉属 (*Funnelformis*) 等为优势属。稀有内养囊霉 (*Entrophospora infrequens*) 是 4 个样地共有的优势种, 该种为广谱生态型种; *Archaeospora* sp. 和 *Paraglomerales* sp. 为矿区冠下的优势种, 它们对锰胁迫有较强的耐受性; *Funnelformis* sp. 为非矿区冠下的优势种。 (3) 冗余分析 (RDA) 表明, AMF 的种类和数量受到锰含量、土壤 pH 值以及全磷含量的显著影响。本研究结果说明 AMF 种类及多样性受到土壤理化性质的影响; 矿区一些耐性 AMF 的存在提高了 AMF 多样性, 它们有利于逆境条件下植物的生长。

关键词: 矿区; 大叶胡枝子; 丛枝菌根真菌; 多样性; 灌丛

Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the soil of *Lespedeza davidii* scrub in manganese mining area

WANG Wenying, XU Baozhu, HU Jiayao, PAN Gao, LIU Wensheng*

School of Life Sciences and Technology, Central-South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

Abstract: *Lespedeza davidii* is a shrub belonging to Fabaceae, which is also an important phytoremediation candidate plant in mining areas because of its strong tolerance to heavy metal stress and the ability of nitrogen-fixation. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) is a kind of symbiotic fungi for plants, and its symbiosis with plants in the mining area can promote the plant growth and improve the plant resistance to stress. However, its species composition, distributions and influencing factors are still unclear. The AMF community of *L. davidii* scrub soil was selected as the study object, and the soil under *L. davidii* canopy and adjacent open land in mining and non-mining areas were collected to carry out internal transcribed spacer (ITS) sequencing and physical and chemical characteristics, aiming to reveal the diversity of soil AMF community in different sample sites and its influencing factors. The results showed that: (1) A total of 2961 operational taxonomic units (OTUs) were obtained from soil samples, among which 66 OTUs belonged to AMF. By consulting Silva database, 7 orders, 10 families, 16 genera and 24 AMF species were obtained. Total species abundance of AMF was the soil in the adjacent open land of mining area > soil under the crown of mining area > soil under the crown of non-mining area >

基金项目: 国家自然科学基金 (42177018); 湖南省自然科学基金 (2022JJ40193)

收稿日期: 2023-01-19; **网络出版日期:** 2024-04-09

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: 403493641@qq.com

soil in the adjacent open land of non-mining area. The trend of Shannon Index and Simpson Index was the same as that of species abundance. (2) *Entrophospora* and so on were the dominant genera in the AMF community of the soil in mining area, while *Funneliformis* and so on were the dominant genera in the AMF community of the soil under the crown of non-mining area. *Entrophospora infrequens* was the common dominant species in four sample sites, which belonged to a broad-spectrum ecotype species. *Archaeospora* sp. and *Paraglomerales* sp. were the dominant species in the AMF community of the soil under the crown of mining area, with strong adaptability to heavy metal stress. *Funneliformis* sp. was the dominant species in the AMF community of the soil under the crown of non-mining area. (3) Redundancy analysis (RDA) illustrated that the species and amounts of AMF were significantly affected by Mn content, soil pH value, and total phosphorus content. All these results showed that AMF species and diversity were effected by soil physicochemical properties. The presence of some AMF, which had strong tolerance in mining area, improved the species diversity, and they can help plant grow under adverse conditions.

Key Words: mining area; *Lespedeza davidii*; arbuscular mycorrhizal fungi; diversity; scrub

丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)是自然界分布广泛的植物共生真菌,能与 80%以上的高等植物建立互惠共生关系,其生物量占土壤微生物总生物量的比例达 10%^[1]。AMF 与植物共生可以提高植物对重金属胁迫的耐受能力^[2]。研究显示,AMF 的物种多样性与植物功能多样性相互促进,利于胁迫条件下植物的生长^[3]。因而,弄清土壤 AMF 物种多样性、分布状况及其与土壤理化性质的关系是改善生态系统功能的关键。

土壤环境是影响 AMF 多样性的关键因素。土壤理化性质、光照及化感物质等多种因素均影响 AMF 的群落组成。例如,有研究对比了矿区和非矿区的 AMF 物种多样性,发现随着重金属浓度的升高,AMF 物种多样性呈下降的趋势^[4]。有机质含量影响土壤 pH 值,进而会导致 AMF 数量的变化^[5]。相比空旷地,植物冠下具有光照弱、含水量高、土壤有机质含量高等特点,这将影响 AMF 的多样性^[6]。研究表明,光照是与 AMF 相关的植物潜在碳成本和碳收益决定性因素^[7],而菌根真菌以宿主植物 0—20%的光合产物碳为成本维持自身生长^[8]。植物与菌根之间的资源联系紧密,表明 AMF 得到的碳含量可能会因遮光引起的低光照水平而受到限制^[9],但也有部分研究发现,尽管光照环境受限制,但还是存在大量 AMF 的侵染^[10]。综上所述,在应对土壤环境变化时,AMF 的具体变化受多种因素影响。因而,揭示植物、土壤和 AMF 之间的相互关系,对矿区等受扰动土壤生态系统功能的恢复具有重要意义。

大叶胡枝子(*Lespedeza davidii*)为一种豆科灌木。该植物分布广泛、株型美观、生物量较高、根系扎根较深、抗逆性强、能进行生物固氮,是一种良好的矿区修复植物^[11]。研究表明,植物对与其共生的 AMF 有一定的选择作用,不同植物 AMF 菌群可能不同^[12]。作为矿区常见的修复植物,研究大叶胡枝子灌丛 AMF 菌群对于更好地利用该植物具有显著意义。

本文以大叶胡枝子灌丛土壤 AMF 群落为研究对象,比较矿区与非矿区大叶胡枝子冠下及其相邻空旷地土壤 AMF 的异同,分析不同样地土壤 AMF 群落的多样性及其影响因素。研究结果将揭示 AMF 多样性的影响机制,以期 AMF 在矿区废弃地生态修复及经营管理中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概述

湖南湘潭锰矿开采自 1910 年代,至今已有 100 多年的历史,长期的锰矿开采形成了大面积的锰矿废弃地。该废弃地位于 27°53′—28°03′N, 112°45′—112°55′E 之间(矿区样地)。该区属亚热带湿润季风气候,为低山-丘陵地貌,原生土壤类型为红壤。植被以自然恢复的小乔木、灌木及多年生草本为主。小乔木主要包括盐肤木(*Rhus chinensis*)、构(*Broussonetia papyrifera*)等,灌木包括大叶胡枝子、山莓(*Rubus corchorifolius*)、榉木

(*Aralia elata*)、苎麻(*Boehmeria nivea*)及山黄麻(*Trema tomentosa*)等,草本植物以五节芒(*Miscanthus floridulus*)、野胡萝卜(*Daucus carota*)、鸡眼草(*Kummerowia striata*)、狗牙根(*Cynodon dactylon*)和五月艾(*Artemisia indica*)等适应范围广泛、耐受性强的物种为主。

为更好弄清环境条件对大叶胡枝子 AMF 多样性的影响,本研究选择位于韶山市杨林乡大马塘烟溪水库附近(27°58'30.94"N,112°32'23.02"E)的大叶胡枝子灌丛作为非矿区样地(非矿区样地)。该区植被以自然生长的大叶胡枝子占优势,灌木有檵木(*Loropetalum chinense*)和金樱子(*Rosa laevigata*)等,草本植物有鸡眼草、五月艾和五节芒等。两个采样地位于相近经纬度,气温、降水等自然条件接近,且成土母质基本相同,所采集的矿区土壤为深黑色,非矿区土壤为棕黄色。

1.2 土壤样品采集

分别在矿区和非矿区设置大叶胡枝子样地。在每个样地内分别选择 10 株长势良好的大叶胡枝子灌丛,在每个灌丛冠下及相邻空旷地(无灌木存在,距灌丛边缘距离超过 1.0 m)各设置 1 个 0.5 m×0.5 m 的土壤样品采集样方,每种生境类型设置 10 个样方,4 种生境类型共计设置 40 个样方。

土样采集时,首先去除土壤表层的苔藓、凋落物等覆盖物。接着使用酒精擦拭采样器,待酒精挥发完全后开始采集。采集时,在每个样方内的四角及中心再设置 5 个小样方,采集根围土壤,采样深度达 20 cm。同一样方五点混合取样(等量混合),去除样品中的植物、可见动物以及石粒等。后续每次更换样方均需重复此步骤。随后将同一样地内的 10 株大叶胡枝子的根际土样混合均匀作为一个根际土壤样品,挖取 1 kg 左右的土壤,装入做好标记的封口袋,放入随身携带的保温盒(带冰袋)中。

每个样品做 5 次重复,共采集 20 份土壤样品。混合好的土壤样本,过 2 mm 筛。一部分土壤风干后 4℃ 收存,用于测定土壤理化性质;一部分土壤分装处理,5 个/组进行生物学重复(避免出现异常样本,剔除后无法用于后续分析),应有 20 组共 100 份,每份 1—3 g,随后转移至-80℃冰箱保存,送至上海美吉生物医药科技有限公司进行 ITS 测序。

1.3 土壤理化性质测定

采用常规方法测定土壤理化性质^[13],其中,土壤 pH 值:采用酸度计法;土壤有机质:用重铬酸钾水合加热法;土壤全氮:用凯氏半微量定氮法;土壤全磷:用钼锑抗比色法;土壤锰含量:用火焰原子吸收分光光度法。土壤理化性质测定结果见表 1。

表 1 各样地土壤理化性质

Table 1 The soil physical and chemical properties of sample site

采样点 Sample site	经纬度 Coordinate	锰含量 Manganese content/ (mg/kg)	pH	有机质 Organic matter/ (g/kg)	全氮 Total nitrogen/ (g/kg)	全磷 Total phosphorus/ (g/kg)
KG	27°53'—28°03'N, 112°45'—112°55'E	70687.5±8964.61a	7.34	18.25±1.25b	0.92±0.11b	0.06±0.05a
KK	27°53'—28°03'N, 112°45'—112°55'E	79170±11678.83a	7.19	23.92±3.34ab	1.01±0.01ab	0.19±0.26a
FG	27°58'30.94''N, 112°32'23.02''E	909.33±34.24b	8.23	27.86±6.45a	1.06±0.07a	0.14±0.1a
FK	27°58'30.94''N, 112°32'23.02''E	684.83±22.77b	8.12	25.04±4.41ab	0.97±0.05ab	0.11±0.09a

KG: 矿区冠下土壤 Soil under the crown of mining area; KK: 矿区相邻空旷地土壤 Soil in the adjacent open land of mining area; FG: 非矿区冠下土壤 Soil under the crown of non-mining area; FK: 非矿区相邻空旷地土壤 Soil in the adjacent open land of non-mining area; 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)

1.4 ITS 测序

完成基因组 DNA 抽提后,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA。按指定测序区域,合成带有

barcode 的特异引物,引物序列为 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')^[14]。荧光定量 PCR 并构建 Miseq 文库,通过 Miseq 测序得到的 PE reads 首先根据 overlap 关系进行拼接,同时对序列质量进行质控和过滤,区分样本后进行 OTUs 的聚类分析和物种分类学分析。

1.5 数据分析

利用 Flash(1.2.11) 和 Prinseq(0.20.4) 分别进行序列拼接和质量控制过滤。按序列间距离对序列进行归类,利用 CROP 方法以 97% 相似性分类 OTUs。使用 Qiime 软件(Version 1.9.1) 计算 AMF 多样性指数;运用 SPSS(26.0) 进行单因素方差分析比较不同样地土壤 AMF 群落多样性指数间的差异,Spearman 相关性分析描述 AMF 多样性指数与土壤理化性质的相关性。

2 结果与分析

2.1 土壤 AMF 分类

由表 2 可知,12 个土壤样本共得到 2961 个 OTU,其中属于 AMF 的 OTU 为 66 个。Silva 数据库进行比对显示共有 7 目,其中已鉴定到原囊霉目 Archaeosporales 的 OTU 为 2 个,多样孢囊霉目 Diversisporales 的 OTU 为 8 个,巨孢囊霉目 Gigasporales 的 OTU 为 3 个,球囊霉目 Glomerales 的 OTU 为 20 个,类球囊霉目 Paraglomerales 的 OTU 为 3 个。这些 AMF 属于 10 科 16 属 24 种。其中已鉴定到原囊霉属 *Archaeospora* 1 种,多样孢囊霉属 *Diversispora* 1 种,内养囊霉属 *Entrophospora* 2 种,巨孢囊霉属 *Gigaspora* 1 种,多氏囊霉属 *Dominikia* 2 种,斗管囊霉属 *Funneliformis* 1 种,球囊霉属 *Glomus* 2 种,根孢囊霉属 *Rhizophagus* 1 种,类球囊霉属 *Paraglomus* 1 种^[15]。

表 2 AMF 分子种分类情况
Table 2 Classification of AMF molecular species

目 Orders	科 Families	属 Genera	种 Species
原囊霉目 Archaeosporales	原囊霉科 Archaeosporaceae	原囊霉属 <i>Archaeospora</i>	<i>Archaeospora</i> sp.
多样孢囊霉目 Diversisporales	多样孢囊霉科 Diversisporaceae	多样孢囊霉属 <i>Diversispora</i>	地表多样孢囊霉 <i>Diversispora epigaea</i>
		内养囊霉属 <i>Entrophospora</i>	稀有内养囊霉 <i>Entrophospora infrequens</i> <i>Entrophospora</i> sp.
巨孢囊霉目 Gigasporales	巨孢囊霉科 Gigasporaceae	巨孢囊霉属 <i>Gigaspora</i>	球状巨孢囊霉 <i>Gigaspora margarita</i>
球囊霉目 Glomerales	球囊霉科 Glomeraceae	多氏囊霉属 <i>Dominikia</i>	伯尔尼多氏囊霉 <i>Dominikia bernensis</i> <i>Dominikia</i> sp.
		斗管囊霉属 <i>Funneliformis</i>	<i>Funneliformis</i> sp.
		球囊霉属 <i>Glomus</i>	印氏球囊霉 <i>Glomus indicum</i> <i>Glomus</i> sp.
		根孢囊霉属 <i>Rhizophagus</i>	明根孢囊霉 <i>Rhizophagus clarus</i>
			<i>Glomeraceae</i> sp.; <i>Glomerales</i> sp.
类球囊霉目 Paraglomerales	类球囊霉科 Paraglomeraceae	类球囊霉属 <i>Paraglomus</i>	<i>Paraglomus</i> sp. <i>Paraglomerales</i> sp.; <i>Glomeromycota</i> sp.

AMF:丛枝菌根真菌 Arbuscular mycorrhizal fungi

2.2 不同样地土壤 AMF 属与种水平 OTU 丰度

属水平上,总体 AMF 丰度为矿区相邻空旷地土壤>矿区冠下土壤>非矿区冠下土壤>非矿区相邻空旷地土壤;除了矿区空旷地 AMF 丰度显著高于非矿区相邻空旷地土壤外($P<0.05$),其他各样地之间的差异均不显著($P>0.05$)。其中,4 个样地的 AMF 在属水平分别为 9、10、9、5 属。种水平上,总体 AMF 丰度趋势同样为

矿区相邻空旷地土壤>矿区冠下土壤>非矿区冠下土壤>非矿区相邻空旷地土壤。其中,四个样地的 AMF 在种水平分别为 11、14、11、7 种。

2.3 不同样地土壤 AMF 群落多样性分析

由表 3 可知,所有样本文库的覆盖度均达到 99% 以上,说明绝大部分真菌序列能被检出,测序结果较好地代表了样本中微生物的真实情况,各样地土壤 AMF 的多样性指数较高。矿区土壤 AMF 群落的 Shannon 指数、Simpson 指数高于非矿区土壤,其中矿区与非矿区相邻空旷地土壤 AMF 群落的多样性指数存在显著差异。

表 3 不同样地土壤 AMF 的多样性指数表

Table 3 The diversity index of AMF in different soils

采样点 Sample site	97%相似水平 Similarity of 97%				
	Sobs 指数 Sobs index	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	Ace 指数 Ace index	Chao1 指数 Chao1 index
KG	5.67±1.15a	1.4±0.25ab	0.73±0.11ab	11.54±5.09ab	7.11±2.52ab
KK	6.67±1.53a	1.67±0.32a	0.83±0.08a	9.55±2.5ab	9.08±3.76a
FG	5.33±0.58ab	1.33±0.17ab	0.7±0.09ab	13.46±6.64a	7.17±1.04ab
FK	3.33±1.15b	0.93±0.3b	0.56±0.12b	3.58±1.42b	3.33±1.15b

2.4 不同样地土壤 AMF 群落组成

由图 1 可知,在四个样地里,矿区冠下土壤 AMF 群落的丰度排名前五位的优势种分别为 Unclassified Glomerales 1(加序号 1 以示与以下的同目 AMF 区别,下同),*Glomeromycota* sp.,稀有内养囊霉(*Entrophospora infrequens*),*Archaeospora* sp.和 *Paraglomerates* sp.。矿区相邻空旷地的优势种前五位分别为 Unclassified Glomerales 2,*Entrophospora* sp.,稀有内养囊霉,*Glomeraceae* sp.和 *Glomeromycota* sp.。非矿区冠下的优势种前五位分别为 *Funneliformis* sp.,稀有内养囊霉, Unclassified Glomerales 3, *Glomeraceae* sp.和 Unclassified *Glomeraceae*。非矿区相邻空旷地的优势种前五位分别为 Unclassified Glomerales 4,*Glomeraceae* sp.,*Glomerales* sp.,稀有内养囊霉和 Unclassified *Glomeraceae*。

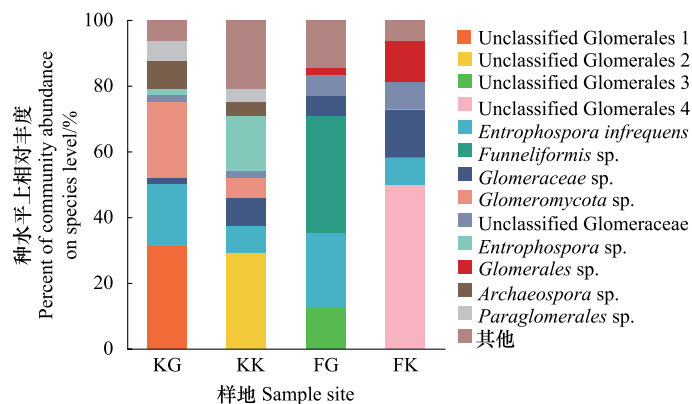


图 1 不同样地土壤 AMF 种水平群落组成

Fig.1 Species composition of AMF at the species level in different soils

Unclassified Glomerales 1: 未定到科的球囊霉目真菌 1; Unclassified Glomerales 2: 未定到科的球囊霉目真菌 2; Unclassified Glomerales 3: 未定到科的球囊霉目真菌 3; Unclassified Glomerales 4: 未定到科的球囊霉目真菌 4; *Entrophospora infrequens*: 稀有内养囊霉; *Funneliformis* sp.: 斗管囊霉属真菌; *Glomeraceae* sp.: 球囊霉科真菌; *Glomeromycota* sp.: 球囊霉门真菌; Unclassified *Glomeraceae*: 未定到属的球囊霉科真菌; *Entrophospora* sp.: 内养囊霉属真菌; *Glomerales* sp.: 球囊霉目真菌; *Archaeospora* sp.: 原囊霉属真菌; *Paraglomerates* sp.: 类球囊霉目真菌; KG: 矿区冠下土壤; KK: 矿区相邻空旷地土壤; FG: 非矿区冠下土壤; FK: 非矿区相邻空旷地土壤

2.5 不同样地土壤 AMF 群落组成热图

由图 2 可知,将样本划分为四个显著不同的类群,表明不同样地土壤 AMF 群落组成有明显不同。矿区土壤 AMF 群落保持相对一致的多样性,非矿区土壤 AMF 群落相似程度同样保持一致。热图中色块颜色代表某一个属相对丰度的大小。结果表明,不同样地土壤中前 5 位属类组成存在差异。矿区冠下与相邻空旷地土壤优势属更加相似,矿区土壤样本中的大部分优势属是 Unclassified Glomerales 及内养囊霉属。而非矿区冠下土壤样本中的大部分优势属是斗管囊霉属及内养囊霉属,而非矿区空旷地土壤样本中的大部分优势属是 Unclassified Glomerales。

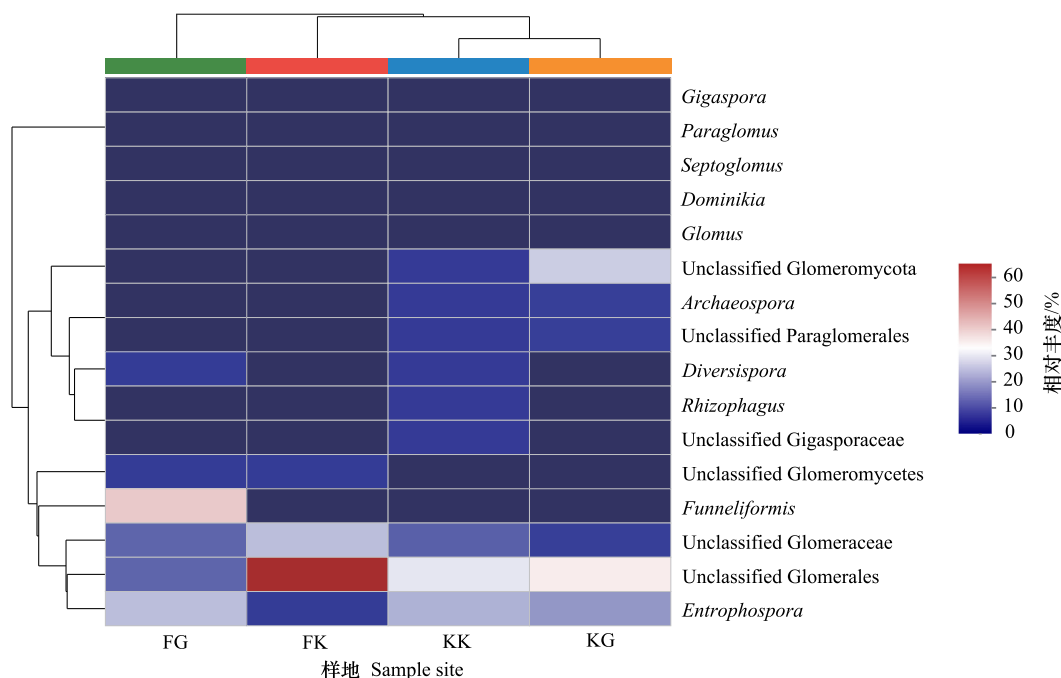


图 2 不同样地土壤 AMF 属水平群落组成热图

Fig.2 Heatmap of species composition of AMF at the genus level in different soils

Gigaspora:巨孢囊霉属; *Paraglomus*:类球囊霉属; *Septoglomus*:隔球囊霉属; *Dominikia*:多氏囊霉属; *Glomus*:球囊霉属; Unclassified Glomeromycota:未定到纲的球囊霉目真菌; *Archaeospora*:原囊霉属; Unclassified Paraglomerates:未定到科的类球囊霉目真菌; *Diversispora*:多样孢囊霉属; *Rhizophagus*:根孢囊霉属; Unclassified Gigasporaceae:未定到属的巨孢囊霉科真菌; Unclassified Glomeromycetes:未定到目的球囊霉纲真菌; *Funneliformis*:斗管囊霉属; Unclassified Glomeraceae:未定到属的球囊霉科真菌; Unclassified Glomerales:未定到科的球囊霉目真菌; *Entrophospora*:内养囊霉属

2.6 不同样地土壤 AMF 群落组成分析

基于 Bray-Curtis 距离对不同样地土壤 AMF 群落组成进行非度量多维尺度 (Non-metric multidimensional scaling, NMDS) 分析,结果表明矿区和非矿区土壤 AMF 群落组成存在差异,矿区冠下与相邻空旷地土壤之间物种组成比较相似,而非矿区冠下与相邻空旷地土壤之间物种组成差异显著。土壤 AMF 群落的 Beta 多样性在矿区土壤间存在明显的聚集效应,在非矿区表现出显著的分离效应(图 3)。

基于 unweighted UniFrac distances 的主坐标分析 (Principal co-ordinates analysis, PCoA) 表明,相较于非矿区土壤,矿区土壤 AMF 群落组成相似度较高(图 4)。

2.7 不同样地土壤 AMF 群落与环境因子相关性分析

冗余分析表明,土壤理化性质能够解释 33.98% 的变异信息,不同样地土壤 AMF 群落与环境因子的相关性存在差异,其中,第一排序轴解释了 21.61% 的信息,第二排序轴解释了 12.37% 的信息(图 5)。

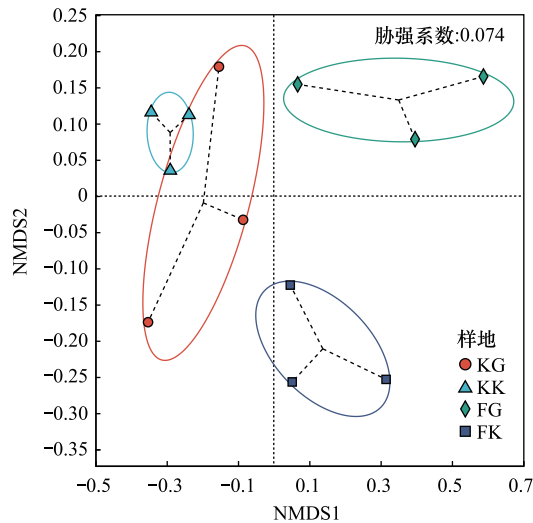


图3 不同样地土壤 AMF 的非度量多维尺度 (NMDS) 分析

Fig.3 The non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis of AMF in different soils

从表4可以看出土壤的全磷含量在轴1中起到主导作用,贡献率为0.9226。

由图6可知,通过分析不同的环境因子对不同样地土壤 AMF 群落组成的影响,结果表明,AMF 群落同时受到锰含量、土壤 pH 值以及全磷含量的影响,不同土壤 AMF 群落受锰含量、土壤 pH 值以及全磷含量影响的情况存在差异。其中,Unclassified Glomeromycota 与锰含量呈显著正相关,与土壤 pH 值呈显著负相关性,说明锰含量的升高和土壤 pH 值的下降影响 Unclassified Glomeromycota 的丰度。斗管囊霉属 *Funneliformis* 与土壤 pH 值呈极显著正相关性,非矿区冠下的优势属为斗管囊霉属,其在非矿区冠下的小生境生长良好,说明此生境条件偏碱性的土壤 pH 值利于该属 AMF 群落的形成。而原囊霉属 *Archaeospora* 及 Unclassified Paraglomerales 与土壤 pH 值呈显著负相关性,说明其适合生存于较低 pH 值的土壤中。

3 讨论

3.1 土壤 AMF 多样性

土壤 AMF 多样性为土壤中 AMF 种类及数量的丰富程度,受到土壤理化性质、光照等的影响,它对植物在胁迫条件下的生长起着至关重要的作用。本文研究结果显示各样地土壤 AMF 的物种多样性表现为:矿区相邻空旷地土壤>矿区冠下土壤>非矿区冠下土壤>非矿区相邻空旷地土壤。孙东年等^[16]研究显示,电子废弃物拆解、倾倒造成的重金属污染区土壤 AMF 多样性高于邻近低污染区,本研究结果与此趋势一致。这说明较高的重金属胁迫并不一定降低土壤 AMF 群落多样性。其原因可能是该区的一些耐性较强的 AMF,例如物种

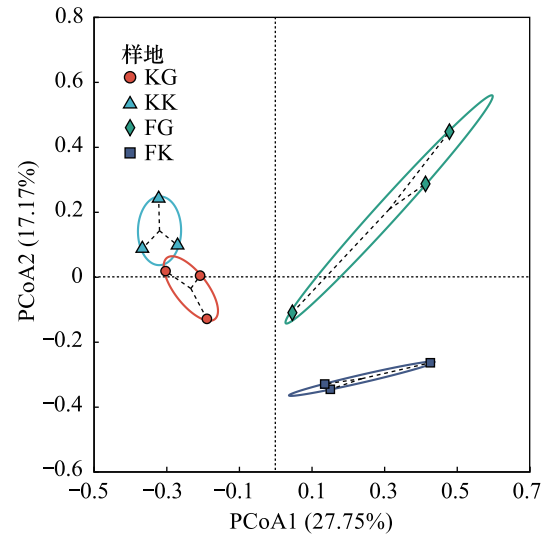


图4 不同样地土壤 AMF 的主坐标分析 (PCoA)

Fig.4 The principal co-ordinates analysis (PCoA) of AMF in different soils

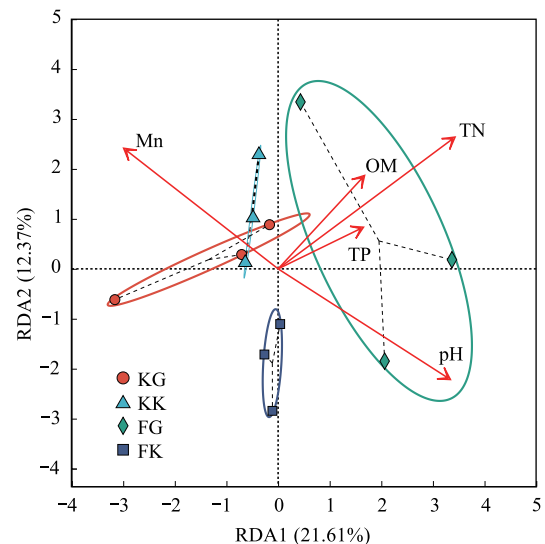


图5 不同样地土壤 AMF 群落与环境因子的冗余分析 (RDA)

Fig.5 The redundancy analysis (RDA) between AMF community and environmental factors in different soils

Mn: 锰含量; pH: 土壤酸碱度; OM: 有机质; TN: 全氮; TP: 全磷

表 4 不同样地土壤 AMF 群落与环境因子的冗余分析 (RDA) 贡献率

Table 4 Contributive rate of redundancy analysis (RDA) between AMF community and environmental factors in different soils

环境因子 Environmental factor	轴 1 贡献率 Contributive rate of RDA1	轴 2 贡献率 Contributive rate of RDA2	环境因子 Environmental factor	轴 1 贡献率 Contributive rate of RDA1	轴 2 贡献率 Contributive rate of RDA2
Mn	-0.8478	0.5303	TN	0.8494	0.5277
pH	0.8915	-0.4531	TP	0.9226	0.3857
OM	0.7498	0.6616			

RDA:冗余分析 Redundancy analysis; Mn: 锰含量 Manganese content; pH: 土壤酸碱度 Soil acidity and alkalinity; OM: 有机质 Organic matter; TN: 全氮 Total nitrogen; TP: 全磷 Total phosphorus

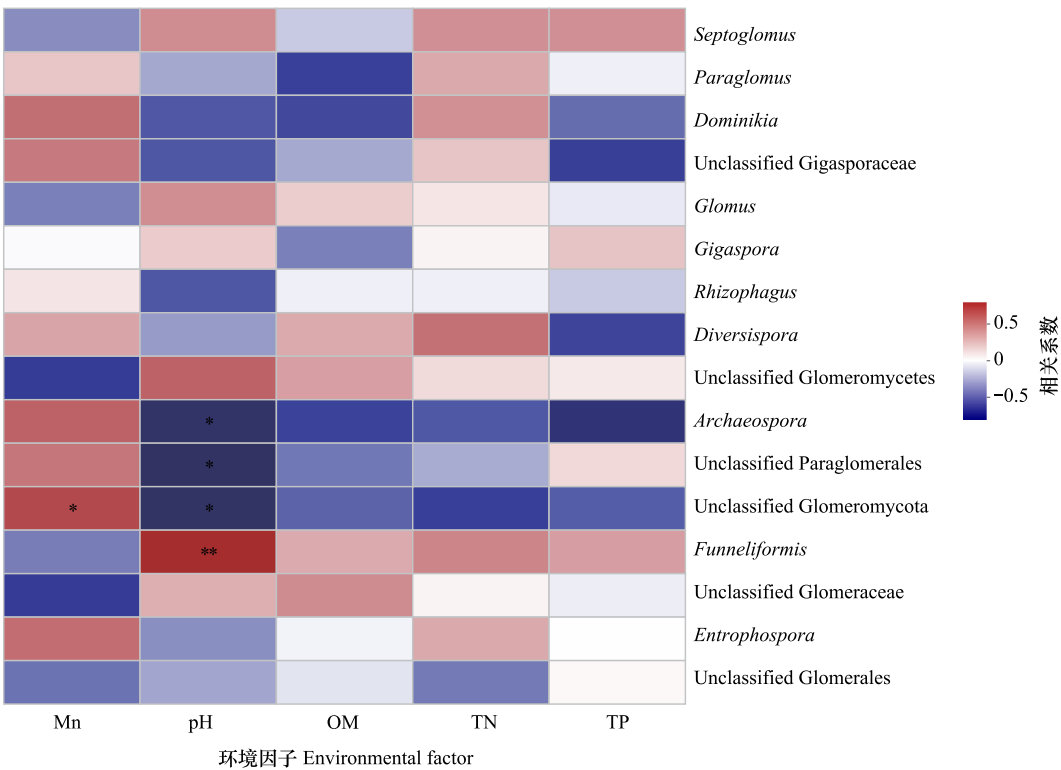


图 6 不同样地土壤 AMF 群落与环境因子相关性热图

Fig.6 Heatmap of correlation between AMF community and environmental factors in different soils

Septoglomus: 隔球囊霉属; *Paraglomus*: 类球囊霉属; *Dominikia*: 多氏囊霉属; *Unclassified Gigasporaceae*: 未定到属的巨孢囊霉科真菌; *Glomus*: 球囊霉属; *Gigaspora*: 巨孢囊霉属; *Rhizophagus*: 根孢囊霉属; *Diversispora*: 多样孢囊霉属; *Unclassified Glomeromycetes*: 未定到目的球囊菌纲真菌; *Archaeospora*: 原囊霉属; *Unclassified Paraglomerales*: 未定到科的类球囊霉目真菌; *Unclassified Glomeromycota*: 未定到纲的球囊霉门真菌; *Funnelformis*: 斗管囊霉属; *Unclassified Glomeraceae*: 未定到属的球囊霉科真菌; *Entrophospora*: 内养囊霉属; *Unclassified Glomerales*: 未定到科的球囊霉目真菌

数较多的内养囊霉属^[17],高浓度的锰刺激了重金属耐受型 AMF(例如内养囊霉属)的生长,导致该区域土壤 AMF 多样性要高于邻近区域。再如,Wei 等^[18]研究表明,即使在锰污染最严重的地点,球囊霉属与植物的菌根共生体也能成功建立,且球囊霉属是锰污染样地土壤 AMF 群落中的优势属。另外,研究也表明球囊霉目对生物胁迫下的植物的营养效益更高^[18]。本研究球囊霉目的 OTU 有 20 个,其数量在目级水平最多。这些充分说明耐受性较强的 AMF 的存在大大提高了矿区 AMF 多样性。另外,矿区相邻空旷土壤上依然生长着鸡眼草、野胡萝卜、狗牙根和五月艾等锰耐受性较强的草本植物,我们通过在锰矿区采集植物根际土壤,并利用湿筛法和孢子形态学鉴定研究表明这些草本植物能与多种 AMF 共生。例如,在鸡眼草根际土壤中分离得到

双网无梗囊霉(*Acaulospora bireticulata*)和缩隔球囊霉(*Septoglomus constrictum*);在野胡萝卜根际土壤中分离得到疣壁盾巨孢囊霉(*Scutellospora verrucosa*);在狗牙根和五月艾的根际土壤中均分离得到摩西斗管囊霉(*Funneliformis mosseae*)。因此,矿区相邻空旷地土壤相比冠下仍然具有较高的 AMF 多样性。

AMF 与植物形成的共生体系,二者具有紧密联系,地上植被可对 AMF 群落组成与数量产生关键影响。影响土壤微生物群落变化的因素包括土壤理化性质的改变,以及土壤是否有植被或凋落物覆盖等。植被的覆盖对太阳辐射有遮蔽作用,地表温度降低会使地表水分蒸发量减少,随即影响冠下土壤的含水率,从而影响微生物群落的多样性。而凋落物也会给土壤提供遮蔽,改变小生境。本研究结果表明,非矿区冠下土壤 AMF 的丰度高于相邻空旷地。研究表明,上层树冠的覆盖会改善冠下土壤微环境,如促进有机质积累以及化感物质的释放等,这有助于 AMF 生长^[19]。例如,魏源等^[20]对喀斯特森林土壤 AMF 的研究表明,土壤有机质对 AMF 的发生和产孢具有很大影响,这是导致 AMF 多样性指数和物种丰富度差异显著的主要原因。任爱天等^[21]的研究表明,土壤的有机质有利于 AMF 的发育,在一定域值范围内 AMF 的数量会随有机质含量的升高而增多。因而,上层树冠可提高 AMF 多样性。植物在生长过程中,会与根系周围环境频繁交换养分和水分,导致根际土壤的微环境与非根际土壤存在差别^[22]。这说明根际 AMF 多样性的差异可能与植物的“根际效应”有关^[23-24]。另外,树冠的遮蔽作用,太阳辐射减少,蒸腾失水随之减少,冠下土壤 AMF 群落相对于空旷地土壤 AMF 群落形成了较好的微生境,从而有利于 AMF 生长^[25]。同时,有研究表明,化感物质在植物与土壤微生物之间起到信号传导作用,植物可能通过分泌化感物质促进其与 AMF 共生^[26],从而影响 AMF 多样性。这些可能是导致土壤 AMF 群落多样性及丰富度存在差异的原因。

3.2 土壤 AMF 优势种

AMF 种类与数量受到植物种类、土壤理化性质等影响。本研究结果显示内养囊霉属为 4 个样地土壤 AMF 群落共有的优势属,稀有内养囊霉为共有的优势种。Rai 等^[27]发现内养囊霉属对各生境条件下植物根部均具有高定殖率,并认为该属真菌适应范围广,为广谱生态型属。李新川^[28]对不同草地 AMF 多样性的研究表明,内养囊霉属耐性和抗性很强,在恶劣的环境中也能与植物共生生长。李华健等^[29]对河北峰峰矿区的研究也发现,稀有内养囊霉在当地优势度高,为广谱生态型种。本研究利用从野外采集的土壤,在分离、鉴定的基础上,应用分离的 AMF 与白车轴草(*Trifolium repens*)共生在锰胁迫梯度(0、10mmol/L、20 mmol/L)的基础上进行单孢培养,检测植物侵染率及孢子产率。结果表明内养囊霉属在不同锰浓度下侵染率及孢子产量无显著差别($P>0.05$)。本研究结果与这些研究报导一致,这进一步说明了内养囊霉属为广谱生态型属,稀有内养囊霉为广谱生态型种,值得我们进一步研究。

本研究结果显示 *Archaeospora* sp. 和 *Paraglomerales* sp. 为矿区冠下的优势种,不是非矿区的优势种,这说明这 2 种 AMF 都对重金属胁迫存在很强的适应性。Wu 等^[30]和 Verma 等^[31]研究表明,原囊霉科(*Archaeosporaceae*)为尾矿场地的优势科,其对尾矿高胁迫环境具有很强的耐受性,原囊霉科的 AMF 可能存在抵御胁迫的机制。本研究中处于原囊霉科的 *Archaeospora* sp. 仅在矿区出现的结果与此一致。这说明原囊霉属的 AMF 为耐受性的种类。*Paraglomerales* sp. 隶属于类球囊霉目,该目为单科单属目。Wu 等^[30]研究表明,类球囊霉科(*Paraglomeraceae*) 在尾矿场地作为优势科出现,在一些采样点的丰度甚至超过了 50%。贾彤等^[32]显示类球囊霉科在铜尾矿丰度可达 23%,显示该科有较强的适应胁迫能力。本研究结果与这些研究报导一致,均说明类球囊霉科为锰耐受性较强的 AMF。

本研究还表明,斗管囊霉属为非矿区冠下的优势属,*Funneliformis* sp. 为非矿区冠下的优势种。Pawlowska 等^[33]和张旭红等^[34]的研究均表明在高浓度重金属胁迫处理下,植物难以被 AMF 侵染,这是由于高浓度的重金属会抑制 AMF 活性。本研究结果与此类似,其原因可能是 *Funneliformis* sp. 锰耐受性不够强,在高锰浓度条件下受到抑制。另外,陈飞^[35]对星星草的研究结果表明,摩西斗管囊霉的侵染能力对宿主植物有一定的偏好性;金中财^[36]对不同生境 AMF 群落的研究表明,*Funneliformis* sp. 为灌丛生境的指示物种,说明它对宿主植物有一定的选择性。刘雅洁等^[12]研究表明,植物根系特征与某些 AMF 的分布高度相关,本研究结果与此一致。

本研究显示, *Funneliformis* sp. 仅在非矿区冠下土壤被发现, 其存在可能与大叶胡枝子的根系有关, 说明宿主植物大叶胡枝子可能对 *Funneliformis* sp. 具有一定的选择性或亲和性。在未来的植物修复计划中, 可以考虑在大叶胡枝子中接种此种 AMF, 以提高修复效率。

3.3 AMF 与环境因子的关系

环境因子, 包括土壤理化性质等, 是影响 AMF 的主要因素。不同的 AMF 的生物学特性不同, 对环境的适应性也不同。这些反映了土壤理化因子与 AMF 多样性之间的关系可能会因立地条件及植被类型而改变^[37-39]。本研究结果表明, 土壤 AMF 受到锰含量、pH 值、全磷含量等多方面因素的显著影响, 其中原囊霉属 *Archaeospora* 的丰度与锰含量呈正相关。一般研究认为, 胁迫越强, AMF 丰度越低^[40]。本研究结果说明原囊霉属 *Archaeospora* 对 Mn 污染的耐受性强。需要更多的研究揭示原囊霉属 *Archaeospora* 抵御胁迫的机制, 并应用于矿山恢复实践中^[30]。

本研究还显示, 原囊霉属 *Archaeospora* 的丰度与土壤 pH 值呈显著负相关 ($P < 0.05$), 优势种 *Funneliformis* sp. 的丰度与土壤 pH 值呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。有研究表明, 不同 AMF 种的最适 pH 不同, 球囊霉属会更适应碱性和中性土壤^[41]。原囊霉属 *Archaeospora* 的丰度与土壤 pH 值呈显著负相关, 说明该 AMF 适宜酸性环境; *Funneliformis* sp. 的丰度与土壤 pH 值呈正相关, 说明该 AMF 适应生长于碱性环境。因而, pH 值是影响矿区 AMF 生长的关键因子。另外, 大叶胡枝子灌丛形成的隐蔽对地面小生境的改变, 也可能导致某些 AMF 特异种的出现, 从而改变 AMF 群落的组成和结构^[42]。综上所述, 样地环境因子的差异, 是导致不同样地生长的 AMF 种类和数量存在差异的关键因素。

4 结论

本研究结果显示, 胁迫条件下大叶胡枝子冠下土壤的 AMF 多样性相较于非胁迫条件的植物冠下土壤高。内养囊霉属为 4 个样地土壤 AMF 群落共有的优势属, 稀有内养囊霉为共有的优势种, 均为广谱生态型。矿区冠下的优势种为 *Archaeospora* sp. 和 *Paraglomerales* sp., 说明其都对重金属胁迫存在很强的适应性。非矿区冠下的优势种为 *Funneliformis* sp.。AMF 的种类和数量受到土壤锰含量、土壤 pH 值以及全磷含量的影响。矿区的优势属具有较强的锰耐受性, 是将来植物与微生物修复重要的备选种源, 值得深入研究。

参考文献 (References):

- [1] 陈梅梅, 陈保冬, 王新军, 朱永官, 王幼珊. 不同磷水平土壤接种丛枝菌根真菌对植物生长和养分吸收的影响. 生态学报, 2009, 29(4): 1980-1986.
- [2] 陈保冬, 孙玉青, 张莘, 伍松林. 菌根真菌重金属耐性机制研究进展. 环境科学, 2015, 36(3): 1123-1132.
- [3] 林艳, 何跃军, 何敏红, 吴春玉, 方正圆, 韩勘, 徐鑫洋, 王世雄. 喀斯特植被演替过程土壤丛枝菌根真菌 (AMF) 多样性. 生态学报, 2019, 39(11): 4127-4137.
- [4] 祖艳群, 卢鑫, 湛方栋, 胡文友, 李元. 丛枝菌根真菌在土壤重金属污染植物修复中的作用及机理研究进展. 植物生理学报, 2015, 51(10): 1538-1548.
- [5] 刘文娟, 马琨, 王兵兵, 何亚玲, 姜琴芳, 米扬. 冬小麦免耕覆盖与有机肥施用对土壤丛枝菌根真菌群落多样性的影响. 生态学杂志, 2022, 41(6): 1101-1108.
- [6] Rodríguez-Echeverría S, Lozano Y M, Bardgett R D. Influence of soil microbiota in nurse plant systems. Functional Ecology, 2016, 30(1): 30-40.
- [7] Bitterlich M, Franken P, Graefe J. Atmospheric drought and low light impede mycorrhizal effects on leaf photosynthesis—a glasshouse study on tomato under naturally fluctuating environmental conditions. Mycorrhiza, 2019, 29(1): 13-28.
- [8] Brundrett M C, Tedersoo L. Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. The New Phytologist, 2018, 220(4): 1108-1115.
- [9] 郭小城. 不同光环境下入侵植物瘤突苍耳对大豆菌根真菌和根瘤菌的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020.
- [10] Hurst S E, Turnbull M H, Norton D A. The effect of plant light environment on mycorrhizal colonisation in field-grown seedlings of podocarp-angiosperm forest tree species. New Zealand Journal of Botany, 2002, 40(1): 65-72.
- [11] 胡佳瑶, 王悟敏, 匡雪韶, 刘文胜. 锰胁迫对大叶胡枝子种子萌发和幼苗生理生化特征的影响. 安徽大学学报: 自然科学版, 2022, 46

- (6): 84-92.
- [12] 刘雅洁, 王玉丹, 曹红月, 王琦玲, 李海薇, 阚佳莹, 杨春雪. AM 真菌群落结构对 4 种不同科属植物根系特征的响应. 草业科学, 2022, 39(6): 1185-1196.
- [13] 鲍士旦. 土壤农化分析. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 25-97.
- [14] Gardes M, Bruns T D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes—application to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular Ecology, 1993, 2(2): 113-118.
- [15] 王幼珊, 刘润进. 球囊菌门丛枝菌根真菌最新分类系统菌种名录. 菌物学报, 2017, 36(7): 820-850.
- [16] 孙东年, 张昱, 秦华, 白建峰, 胡君利, 王景伟, 林先贵. 电子废弃物拆解区土壤重金属污染对丛枝菌根真菌多样性的影响. 微生物学通报, 2020, 47(11): 3780-3788.
- [17] 吴强盛. 园艺植物丛枝菌根研究与应用. 北京: 科学出版社, 2010: 85-91.
- [18] Wei Y, Hou H, Li J N, Shang Guan Y X, Xu Y F, Zhang J, Zhao L, Wang W Y. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with an Mn hyperaccumulator—*Phytolacca americana*, in Mn mining area. Applied Soil Ecology, 2014, 82: 11-17.
- [19] Xie L N, Soliveres S, Allan E, Zhang G G, Man L, Mei X F, Li Y, Wang Y T, Ma C C. Woody species have stronger facilitative effects on soil biota than on plants along an aridity gradient. Journal of Vegetation Science, 2021, 32(3): e13034.
- [20] 魏源, 王世杰, 刘秀明, 黄天志. 不同喀斯特小生境中土壤丛枝菌根真菌的遗传多样性. 植物生态学报, 2011, 35(10): 1083-1090.
- [21] 任爱天, 鲁为华, 杨洁晶, 马春晖. 石河子绿洲区苜蓿地丛枝菌根真菌的多样性及与土壤因子的关系. 草业科学, 2014, 31(9): 1666-1672.
- [22] Williams M A, Rice C W. Seven years of enhanced water availability influences the physiological, structural, and functional attributes of a soil microbial community. Applied Soil Ecology, 2007, 35(3): 535-545.
- [23] Philippot L, Raaijmakers J M, Lemanceau P, van der Putten W H. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. Nature Reviews Microbiology, 2013, 11(11): 789-799.
- [24] Demenois J, Carrionde F, Bonaventure P, Maeght J L, Stokes A, Rey F. Impact of plant root functional traits and associated mycorrhizas on the aggregate stability of a tropical Ferralsol. Geoderma, 2018, 312: 6-16.
- [25] Hortal S, Bastida F, Armas C, Lozano Y M, Moreno J L, García C, Pugnaire F I. Soil microbial community under a nurse-plant species changes in composition, biomass and activity as the nurse grows. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 64: 139-146.
- [26] 王兵. 化感作用与丛枝菌根在加拿大一枝黄花入侵过程中的作用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [27] Rai I N, Suada I K, Proborini M W, Wiraatmaja I W, Semenov M, Krasnov G. Indigenous endomycorrhizal fungi at salak (*Salacca zalacca*) plantations in Bali, Indonesia and their colonization of the roots. Biodiversitas Journal of Biological Diversity, 2019, 20(8): 2410-2416.
- [28] 李新川. 天山北坡不同草地类型 AM 真菌多样性及其影响因子分析[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2016.
- [29] 李华健, 贺学礼. 河北峰峰矿区构树 AM 真菌物种多样性及生态适应性. 河北大学学报: 自然科学版, 2019, 39(3): 278-287.
- [30] Wu S L, You F, Wu Z X, Bond P, Hall M, Huang L B. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities across the gradient of alkaline Fe ore tailings, revegetated waste rock to natural soil sites. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27(11): 11968-11979.
- [31] Verma P V R K, Verma R K. Species diversity of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in dalli-rajhara iron mine overburden dump of chhattisgarh (central India). International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2017, 6(4): 2766-2781.
- [32] 贾彤, 姚玉珊, 郭婷艳. 铜尾矿白羊草各生长阶段根际土壤丛枝菌根真菌群落特征. 生态学报, 2020, 40(13): 4651-4658.
- [33] Pawlowska T E, Chaney R L, Chin M, Charvat I. Effects of metal phytoextraction practices on the indigenous community of arbuscular mycorrhizal fungi at a metal-contaminated landfill. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(6): 2526-2530.
- [34] 张旭红, 林爱军, 张莘, 郭兰萍. Cu 污染土壤接种丛枝菌根真菌对旱稻生长的影响. 环境工程学报, 2012, 6(5): 1677-1681.
- [35] 陈飞. 松嫩盐碱草地星星草根围 AM 真菌多样性及功能研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2017.
- [36] 金中财. 青藏高原东缘不同生境丛枝菌根真菌孢子群落的研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2017.
- [37] 孙向伟, 王晓娟, 陈牧, 豆存艳, 高飞翔, 金樑. 生态环境因子对 AM 真菌孢子形成与分布的作用机制. 草业学报, 2011, 20(1): 214-221.
- [38] 邱江梅, 曹建华, 李强. 云南岩溶断陷盆地土地利用方式对丛枝菌根真菌群落结构的影响. 微生物学通报, 2020, 47(9): 2771-2788.
- [39] 李雪静, 徐天乐, 陈保冬, 徐丽娇, 赵爱花. 荒漠和草原生态系统丛枝菌根真菌多样性和群落结构. 生态学杂志, 2017, 36(10): 2734-2743.
- [40] 王发园, 刘润进, 林先贵, 周健民. 几种生态环境中 AM 真菌多样性比较研究. 生态学报, 2003, 23(12): 2666-2671.
- [41] Gai J P, Christie P, Feng G, Li X L. Twenty years of research on community composition and species distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in China: a review. Mycorrhiza, 2006, 16(4): 229-239.
- [42] 肖艳萍, 李涛, 费洪运, 赵之伟. 云南金顶铅锌矿区丛枝菌根真菌多样性的研究. 菌物学报, 2008, 27(5): 652-662.