

DOI: 10.20103/j.stxb.202304200815

陈羽彤, 张利敏, 王思琪, 周利军. 冻融季温带森林土壤真菌群落结构及功能类群对不同土壤有机碳输入的响应. 生态学报, 2024, 44(6): 2244-2255.

Chen Y T, Zhang L M, Wang S Q, Zhou L J. Soil fungal community structure and functional group in response to different soil organic carbon inputs in the temperate forest during the freeze-thaw season. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(6): 2244-2255.

冻融季温带森林土壤真菌群落结构及功能类群对不同土壤有机碳输入的响应

陈羽彤¹, 张利敏^{1,*}, 王思琪¹, 周利军²

1 哈尔滨师范大学寒区地理环境监测与空间信息服务黑龙江省重点实验室, 哈尔滨师范大学地理科学学院, 哈尔滨 150025

2 绥化学院, 农业与水利工程学院, 绥化 152061

摘要:根系与凋落物有机碳输入变化对土壤生物群落的影响研究是目前学术界关注的热点问题,但冻融季不同有机碳输入方式将对土壤真菌群落结构及功能类群产生何种影响尚不明确。土壤真菌群落是调节森林生态系统稳定性的重要因素,有助于维持生态系统生产力时间尺度的稳定性。为了探索冻融季温带森林土壤真菌群落对控制根系和凋落物有机碳输入方式的响应特征,通过在帽儿山生态站设置 4 种碳源输入控制处理(植物残体添加去除(DIRT):去除凋落物仅根系输入处理、去除根系仅凋落物输入处理、无碳源输入处理和同时进行根系与凋落物输入处理),采用 ITS rDNA 高通量测序技术和 FUNGuild 功能预测平台,来分析控制根系和凋落物有机碳输入方式对温带森林土壤真菌群落结构和功能类群的影响。研究结果显示:(1)不同有机碳输入方式改变了土壤真菌类群的多度:与自然生长状态下有机碳输入方式相比,根系有机碳输入比凋落物有机碳输入对土壤真菌类群多度影响更明显,去除根系碳源输入处理使真菌群落中子囊菌门含量升高 19.52%,担子菌门含量下降 16.77%。(2)有机碳输入方式对土壤真菌群落功能类群产生影响:与自然生长状态下有机碳输入方式相比,去除根系碳源输入处理使群落内腐生营养型真菌、病原营养型真菌数量占比增加 9.79%、1.22%;去除凋落物碳源输入处理下群落内腐生营养型、病原营养型真菌数量占比下降 7.58%、0.85%。(3)有机碳输入方式对真菌群落结构的影响与土壤理化环境因子有关,微生物氮的含量是主导土壤真菌群落结构出现显著差异的关键因子。以上结果表明有机碳输入方式对土壤真菌群落结构及功能类群有重要调控作用,研究结果丰富了温带森林土壤微生物群落的研究内容,为研究土壤微生态环境的变化对生态系统过程的影响提供理论支持和参考依据,此外未来的研究应重点关注不同季节间凋落物和根系输入处理对土壤真菌群落的长期影响。

关键词:植物残体添加去除;FUNGuild 功能预测;高通量测序;alpha 多样性;冻融季

Soil fungal community structure and functional group in response to different soil organic carbon inputs in the temperate forest during the freeze-thaw season

CHEN Yutong¹, ZHANG Limin^{1,*}, WANG Siqi¹, ZHOU Lijun²

1 Heilongjiang Province Key Laboratory of Geographical Environment Monitoring and Spatial Information Service in Cold Regions, School of Geographical Science, Harbin Normal University, Harbin 150025, China

2 College of Agriculture and Hydraulic Engineering, Suihua University, Suihua 152061, China

Abstract: Research on the influence of change of organic carbon input from aboveground litter and belowground roots on soil biological community is a topical issue in academic circles at present. However, it is unclear about the influence of organic carbon input methods on soil fungal community structure and functional group during the freeze-thaw season. The

基金项目:国家自然科学基金项目(31670619, 42371119);黑龙江省留学归国人员科学基金(LC2018011);黑龙江省自然科学基金项目(LH2019D018)

收稿日期:2023-04-20; 网络出版日期:2023-12-22

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zlmjhb@163.com

soil fungal community is an important factor in regulating the stability of forest ecosystem, which help to maintain the stability of ecosystem productivity timescales. In order to investigate the response characteristics of the soil fungal community to organic carbon input from aboveground litter and belowground root in freeze-thaw seasonal temperate forest, this study used ITS rDNA high-throughput sequencing technology and the FUNGuild functional prediction platform. Four different carbon input treatments were set up in Maoershan Ecological Station (Detritus input and removal treatments, DIRT), including litter removal (NL), root removal (NR), litter and root removal (NLR) and control (CK). We analyzed the influence of controlling roots and litter on fungal community structure and functional groups in temperate forest soil. The result showed that: (1) different organic carbon input patterns altered the relative abundance of the soil fungal community. Root organic carbon input had more obvious effects on the relative abundance of soil fungal communities than litter inputs. Relative abundance of the Ascomycota was 19.52% higher and relative abundance of the Basidiomycota was 16.77% lower than those in the control treatment, respectively. (2) The mode of organic carbon input had a significant effect on the functional group of the soil fungal community. The proportion of Saprotroph fungi and Pathotroph fungi were 9.79% and 1.22% higher in root removal treatment, at the same time which were 7.58% and 0.85% lower than those in the control treatment. (3) The influence of organic carbon input mode on fungal community structure was related to soil physical and chemical environmental factors. The content of microbial nitrogen was a key factor leading to the emergence of significant differences in soil fungal community structure. The results highlighted the importance and regulation of organic carbon inputs on soil fungal community structure and functional group. The results enriched the research content of soil microbial community in temperate forest, and provided theoretical support and reference for the study of the influences of soil microecological environment changes on ecosystem processes. In addition, the future studies should focus on the long-term effects of litter and root input treatments on soil fungal community in different seasons.

Key Words: detritus input and removal treatments; FUNGuild functional prediction; high-throughput sequencing; alpha diversity; freeze-thaw season

土壤微生物群落分布散乱且广泛,对于维持生态平衡以及优化生态结构等有着关键作用,同时也是生态系统养分传输中不可缺少的因素^[1]。Sun M^[2]研究认为在森林生态系统微生物群落中细菌群落是在数量上占据主导地位,但是真菌群落起到在分解过程中将土壤和植物相互影响联系起来的重要作用^[3],且真菌群落在群落结构和多样性方面对土壤生态环境的响应比细菌群落更灵敏^[4-6]。土壤真菌群落是调节生态系统功能的重要驱动力^[7],可以提高植物生产力以及缓解其他生物和非生物胁迫^[8]。土壤真菌群落可以实现功能冗余,而相关类群可以更加灵活高效的与外部环境有效兼容和协同^[9],有助于维持生态系统生产力时间尺度的稳定性,这与真菌功能类群的生态策略密切相关^[10]。Meidute^[11]研究证实土壤真菌群落能够降解顽固化合物从而在纤维素和半纤维素分解中占据主导地位,而 Thomas Schneider^[12]认为当外界环境发生变化时子囊菌门等腐生营养型真菌会在众多功能类群真菌中率先作出响应降解土壤有机质释放土壤养分。土壤有机碳为真菌群落的生长提供能量,输入土壤有机碳具有增强土壤保水性以及对植物所需的营养元素产生供应等作用,不同土壤有机碳的输入方式会导致真菌群落的生物量、结构及活性发生变化,同时对土壤理化性质和土壤养分进行调节^[13],从而间接影响着真菌群落功能以及真菌群落所参与的土壤有机质矿化等过程。

在森林生态系统中对于土壤有机碳的研究一般是针对植被根系和凋落物的输入,1956 年 Francis Hole 博士在森林生态系统中设置了改变碳源输入方式的实验方法 (detritus input and removal treatments, DIRT)^[14],通过控制地表凋落物和根系的输入方式与速率可以在较短时间内观测到土壤有机碳和土壤微生物群落间的反馈作用,对土壤生态系统进行深入研究^[15-16]。植物根系是植物运输水分和营养物质的主要器官,而在温带森林中来源于植物根系输入的碳是土壤微生物重要能量来源^[17],植物根系生物量的增加或减少会刺激或减弱真菌生长,从而影响微生物对有机质的物理化学作用^[18]。Chen D^[19]研究表示根系去除会阻断光合作用输

入土壤,进而降低土壤中有机碳的含量;同时 Wang Q K^[20]发现去除根系还可能改变土壤微生物群落,使得土壤真菌数量减少、放线菌数量增加且细菌群落结构有所变化。凋落物是比较有效且营养成分较高的一种地上有机物,内部含量变化会导致土壤碳库发生积累或流失^[21]。Leff J W^[22]和 Crow S E^[23]发现在热带森林与亚热带实验林中凋落物含量与土壤有机碳含量呈显著正相关关系,双倍凋落物处理后的土壤有机碳含量显著增加同时去除凋落物处理使有机碳含量下降^[24]。此外,根据部分学者的结论可知:将去除凋落物输入处理作为参照,去除根系输入处理对于植物生长影响差异较为显著^[25-26]。究其原因来看,主要是因为根系和真菌会发生联合反应,并产生根系共同体,真菌利用有机物的提取可以让宿主的营养成分处于合理状态^[27],通过强化光合效能以及提高水分胁迫的耐受性,可以让植物与环境的兼容性更强,适应效果更好^[28]。对于是否得出根系输入处理对土壤真菌群落的影响多于凋落物输入处理这一结论尚不明确,因此探究在不同土壤碳源输入对温带森林土壤真菌群落的影响对于促进森林生态系统稳定性具有现实意义。

在森林生态系统中,植物根系和凋落物的输入会受到水热环境因子的影响,尤其是在中高纬度地区出现的冻融作用对有机碳输入的影响更大。冻融作用是在秋末春初出现反复冻结融化过程同时是中高纬度地区和高海拔区域鲜明的特色作用,这种特色的冻融作用会对区域内生态系统的变化产生重要影响^[29]。王广帅^[30]和孙嘉鸿^[31]通过研究发现,冻融作用主要通过改变土壤理化性质和水热环境过程从而能够使微生物的活性以及菌群数量发生变化;在此同时冻融交替会降低根系的活力,久而久之,根系就会逐步凋亡腐烂,并释放出有机碳,进而让其碳源更加充足。娄鑫^[32]研究表明冻融交替过程会使土壤中的 C、N、P 等浓度急速增加,对于生态系统养分循环与输送会带来一定干扰,潜在地影响生态系统生产力。通过以上研究推断冻融作用会对土壤生态系统和微食物网产生直接或间接的影响,但是关于土壤真菌群落的结构及功能对冻融作用的响应目前尚未明确^[33]。此外,我们以前的研究也证实了不同季节下土壤真菌群落的组成及多样性存在明显差异,但是对于真菌群落结构及功能类群方面的研究较为缺少。因此研究冻融季土壤碳源输入方式对于长期监测土壤真菌群落结构间的相互作用及功能变化是十分重要的。

近年来有关冻融季温带森林土壤真菌群落对植物碳源输入方式响应的研究较少,土壤理化性质和水热环境因子的差异与土壤真菌群落之间的具体影响机理并未形成共识。随着 FUNGuild 真菌功能预测技术的升级和运用,真菌群落结构及功能的变化逐渐成为了学界科研的焦点^[34],以相同类型营养物质为基准,站在生态功能的维度下,对真菌功能类型以及具体结构等予以剖析^[35]。本研究通过野外控制实验(DIRT)与室内实验相结合,以帽儿山地区典型的温带森林土壤为研究对象,通过 FUNGuild 功能预测平台和高通量测序技术,围绕研究区域内真菌群落对四种碳源输入处理方式的响应,为研究土壤微生态环境的变化对生态系统过程的影响提供理论支持和参考依据。根据以往研究提出以下假设:(1)在不同有机碳输入方式中土壤真菌群落结构变化具有差异,相比于去除凋落物输入处理,去除根系输入处理对土壤真菌群落的结构方面影响更大。(2)不同有机碳输入方式会对土壤真菌群落功能类群在数量占比方面产生影响,去除根系输入处理会使功能类群中腐生营养型真菌的数量增加。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区域位于黑龙江省尚志市帽儿山镇(45°25'N, 127°38'E),是东北林业大学森林生态站,长期开展森林生态系统观测研究。

研究区属于温带大陆性季风气候,年平均降水量 723mm,年平均蒸发量 1093mm,年平均气温 2.8℃;地貌为低山丘陵区,地势由南向北逐渐升高,平均海拔 300m,最高山峰海拔 805m;区内土壤为暗棕色的森林土壤,属于淋溶土;植被属长白植物区系,是典型的东北东部天然次生林区,平均森林覆盖率为 95%^[36]。

1.2 试验设计和样本采集

于 2018 年 7 月在天然次生林中设置了 4 个立地条件相似的样地(面积 20m×20m),每块样地设置 3 个重

复(1.5m×1.5m)。对各个样地分别进行地上碳源和地下碳源输入处理,包括以下四种处理方式:

(1) 同时进行根系和凋落物输入处理(CK):维持自然生长状态,不进行人为干扰;

(2) 去除凋落物仅根系输入处理(NL):在样地上方及周围 1m 处安装孔径为 1mm 的尼龙网,以防止凋落物输入,并清除所有表面凋落物;

(3) 去除根系仅凋落物输入处理(NR):沿区域外挖,深至植物根系分布层以下 70—100cm。然后用双层厚塑料膜将该区域周围的根隔离,并将活的植物去除^[37—38];

(4) 无碳源输入处理(NLR):将上述处理(2)、(3)同时进行。

每个样地之间间隔 100m 以上,防止样地间相互干扰。试验经过两年时间排除样地初期自然环境干扰,稳定后于 2021 年东北温带森林季节性冻融期(3 月)采集土壤样品。从每个样地表面采集 0—10cm 土壤,去除石头和残留的植物后充分混合。共采集 12 份土壤样本分成两个部分:一部分过筛后储存在-80℃的环境下,从中将其含有的 DNA 予以分离和提取;另一部分自然风干,为后续的理化性质研究提供支持。

1.3 土壤理化性质

鲜土样品用以测定:土壤微生物量碳、微生物量氮(氯仿熏蒸法);土壤铵态氮、硝态氮(连续流动分析仪)^[39];土壤含水率(烘干法)^[40]。

风干土壤样品用以测定:土壤全氮、全碳(元素分析仪)^[41];土壤 pH(电位法)。以上理化性质均委托中科院东北地理与农业生态研究所测定。

1.4 DNA 提取和 PCR 扩增

采用 PowerSoil DNA Isolation Kit(MoBio)DNA 提取试剂盒提取土壤 DNA 后送至欧易生物科技有限公司进行测序。对真菌 ITS1-ITS2 区段进行扩增,使用条形码引物集(ITS1F-5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和(ITS2-5'-GCTGCGTCTTCATCGATGC-3')。

PCR(polymerase chain reaction 聚合酶链反应)扩增的反应体系如下:2×Gflex PCR Buffer 15μL,5pmol/μL primer F 1μL,5pmol/μL primer R 1μL,Template DNA≥1μL(50ng),Tks Gflex DNA Polymerase (1.25U/μL) 0.6μL,H₂O 补足至 30μL。将凝胶回收产物进行二次 PCR 扩增,第二次 PCR 扩增的反应体系如下:2×Gflex PCR Buffer 15μL,Tks Gflex DNA Polymerase (1.25U/μL) 0.6μL,Adapter I5 取 1μL,Adapter I7 取 1μL,第一轮产物取 50ng,H₂O 补足至 30μL,热循环,完成 DNA 二次扩增。

1.5 生物信息方法

首先剪切正、反向引物和条形码序列,然后用 Flash^[42]组装配对端 reads。通过 Btrim 程序过滤不合格序列,阈值质量评分为>20,删除窗口大小为 5 个碱基的未定义序列;<200bp 的序列也被删除。使用 UPARSE 算法生成具有 97%聚类相似性的高质量序列的操作分类单元(Operational Taxonomic Units,OTUs)表,所有序列预处理均使用生物信息学工具平台进行,由上海欧易生物科技有限公司完成^[43]。

1.6 统计分析

1.6.1 生态功能类群分析

选取菌群内 OTU 数大于 10 的序列,采用 FUNGuild(Fungi functional guild)数据库平台(<http://www.stbates.org/guilds/app.php>)。对不同土壤碳源输入下的真菌群落进行比对分析,将真菌划分为不同的功能营养型(Trophic Mode)和生态功能分组(Guild)。

功能营养型包括:腐生营养型、病原营养型、腐生-共生营养型、病原-腐生-共生过渡营养型等 6 种。

功能分组包括:动物病原菌、粪腐生真菌、外生菌根、内生菌根、叶子腐生真菌、植物病原菌、土壤腐生真菌等 16 种^[44]。

1.6.2 其他数据分析

使用 Microsoft Excel 2016 整理实验数据;使用 IBM SPSS Statistics 25.0 统计分析数据显著性差异;采用单因素方差分析法(One-way ANOVA)分析不同土壤碳源输入下土壤理化性质、物种组成差异及多样性指数;采

用双变量相关分析法分析不同土壤碳源输入下土壤真菌群落结构、多样性指数与土壤环境因子的相关关系;绘图均在 Origin 2021 中完成。

2 结果

2.1 有机碳输入方式对土壤真菌群落结构的影响

为探究冻融季不同有机碳输入对土壤真菌群落结构的影响,将 12 个土壤样本通过高通量测序进行 ITS 序列分析,共得到 9 个门,37 个纲,104 个目,236 个科,559 个属。优势菌门包括子囊菌门(Ascomycota)和接合菌门(Zygomycota),二者占总体丰度的 67.78%—85.93%(图 1);优势菌纲是粪壳菌纲(Sordariomycetes)和伞菌纲(Agaricomycetes),二者占总体丰度的 34.24%—55.64%(图 2)。

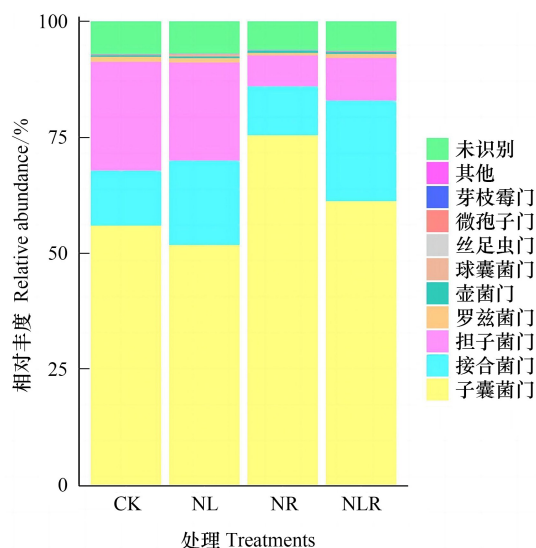


图 1 不同碳源输入方式下土壤真菌群落在门水平的相对丰度

Fig.1 Relative abundance of soil fungal communities under different carbon source input methods at phylum level

CK:同时进行根系和凋落物输入处理;NL:去除凋落物仅根系输入处理;NR:去除根系仅凋落物输入处理;NLR:无碳源输入处理

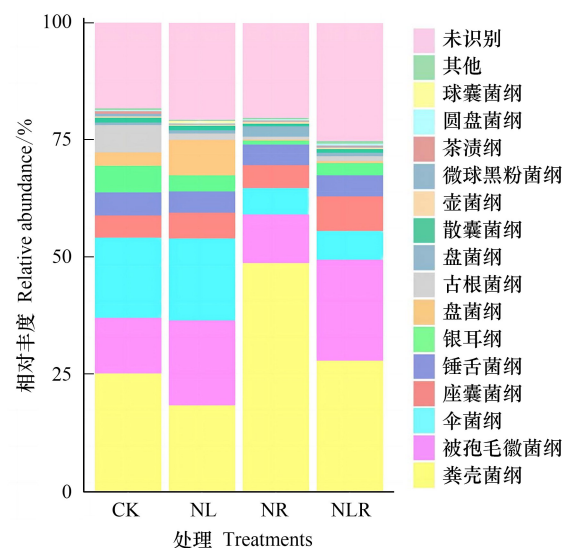


图 2 不同碳源输入方式下土壤真菌群落在纲水平上的相对丰度

Fig.2 Relative abundance of soil fungal communities under different carbon source input methods at class level

冻融季不同有机碳输入方式会对土壤真菌群落结构产生显著影响($P < 0.05$):与根系和凋落物同时输入处理(CK)相比,无凋落物输入处理(NL、NLR)使接合菌门的相对丰度增加,无根系输入处理(NR、NLR)使子囊菌门的相对丰度增加,而在去除根系仅凋落物输入处理(NR)下使子囊菌门的相对丰度升高同时接合菌门的相对丰度下降,且子囊菌门的相对丰度显著高于去除凋落物仅根系输入处理(NL)。对于担子菌门(Basidiomycota)来说,在去除凋落物仅根系输入处理(NL)下为优势菌门,但是在无根系输入处理(NR、NLR)下为非优势菌门。

2.2 有机碳输入方式对土壤真菌群落 Alpha 多样性的影响

通过对数据检验 Coverage 指数在 0.994—0.995 之间,证明本次测序结果可以代表样本中真菌的真实情况,说明对于多样性指数结果的分析是有效的。

不同有机碳输入方式使土壤真菌群落多样性指数发生改变:与根系和凋落物同时输入处理(CK)相比,无凋落物输入处理(NL、NLR)下 Chao1 指数均有所降低,说明凋落物会对土壤真菌群落物种的丰富度产生影响,去除凋落物使得物种丰富度降低;去除根系仅凋落物输入处理(NR)中 Simpson 指数降低,Chao1 指数、Shannon-Wiener 指数和 Pielou 指数均有所提升,说明根系输入会影响土壤真菌群落物种的优势度,去除根系仅凋落物输入处理使得物种优势度降低(图 3)。

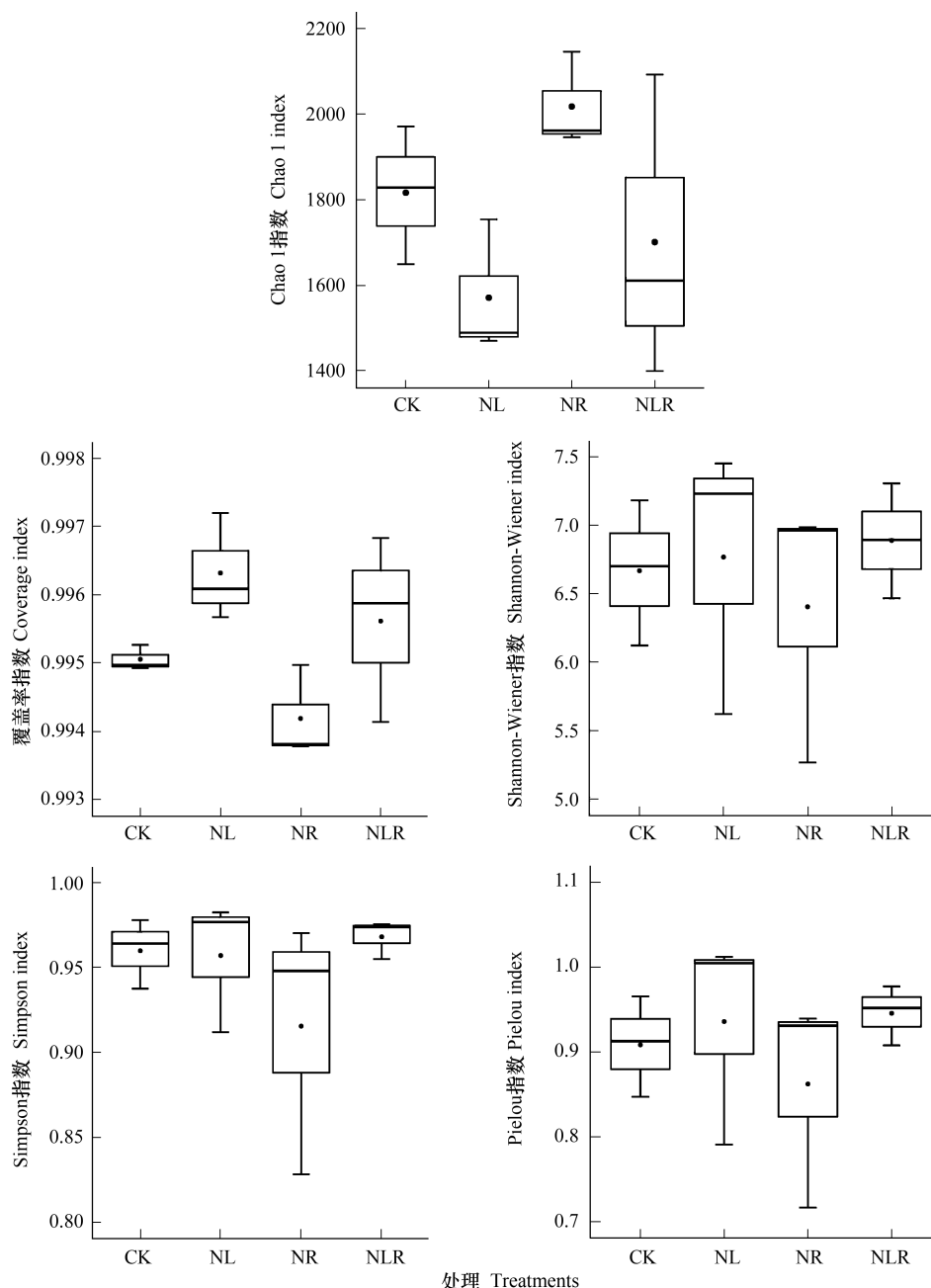


图 3 不同碳源输入方式下土壤真菌群落 Alpha 多样性

Fig.3 Alpha diversity of soil fungal communities under different carbon source input methods

2.3 土壤真菌群落与环境因子分析

2.3.1 土壤真菌群落组成与环境因子相关性分析

选取土壤真菌群落组成相对丰度前二十的真菌属与环境因子进行 Pearson 分析,表明土壤真菌群落组成受环境因子调控(图 4)。

毛壳菌属(*Chaetomium*)与 MBC 呈正相关($P < 0.05$),与 DOC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、SWC、TC 和 TN 等 5 种环境因子呈显著正相关($P < 0.01$);黄花杓兰属(*Leptodontidium*)与 DOC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 SWC 呈极显著正相关($P < 0.001$),同时与 MBC、TC 和 TN 呈显著正相关($P < 0.01$);这些结果说明毛壳菌属(*Chaetomium*)和黄花杓兰属(*Leptodontidium*)容易受到环境中 DOC、MBC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、SWC、TC 和 TN 的影响,当以上几种环境要素增强时,会

使毛壳菌属 (*Chaetomium*) 和黄花杓兰属 (*Leptodontidium*) 数量显著增加。而 MBN 与负蝗属 (*Atractospora*) 和被孢霉属 (*Mortierella*) 呈负相关关系 ($P<0.05$), 同时 pH 与丝膜菌属 (*Cortinarius*) 呈负相关关系 ($P<0.05$)。说明当 MBN、TN 和 pH 的含量提高时, 不利于负蝗属 (*Atractospora*) 和被孢霉属 (*Mortierella*) 的群落数量增加。

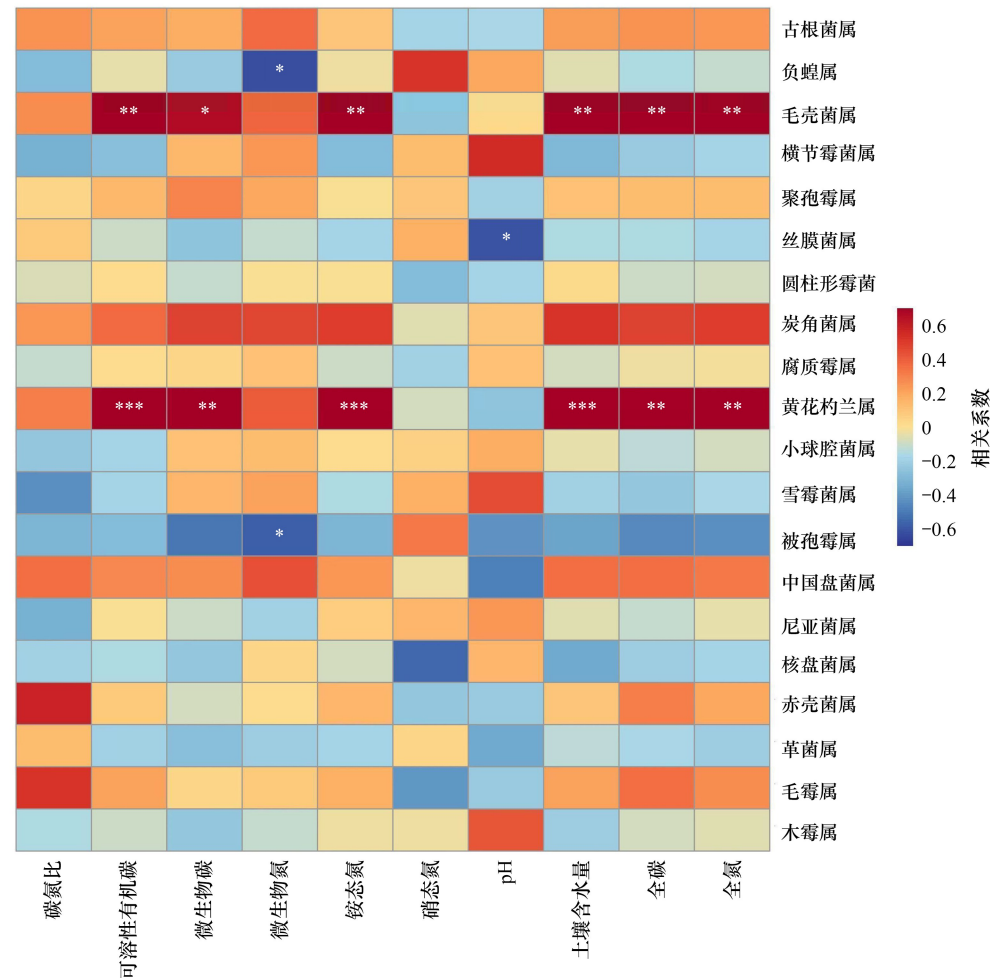


图 4 不同碳源输入方式下土壤真菌群落组成与环境因子相关性分析热图

Fig.4 Heat map of correlation analysis between soil fungal community composition and environmental factors under different carbon source input methods

*** 为 $P<0.001$; ** 为 $P<0.01$; * 为 $P<0.05$

2.3.2 土壤真菌群落多样性与环境因子相关性分析

选取土壤真菌群落多样性指数与环境因子进行 Spearman 分析, 表明环境因子与土壤真菌群落多样性指数具有相关性(表 1)。

Shannon 指数、Simpson 指数和 Pielou 指数与 SWC 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 这两种环境因子呈极显著正相关 ($P<0.01$), 表明 SWC 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 是影响土壤真菌群落多样性的主要环境因子。其次, Simpson 指数和 DOC 呈显著正相关 ($P<0.05$), 说明 DOC 也是影响土壤真菌群落多样性的环境因子。

2.4 有机碳输入方式对土壤真菌群落功能类群的影响

在不同土壤碳源输入处理下, 占据主导优势的功能营养型是腐生营养型 (16.65%—34.02%) 和腐生-共生营养型 (19.03%—37.03%), 其次是病原-腐生-共生过渡营养型 (7.21%—17.21%)。

不同土壤碳源输入会对真菌群落的功能类群分布产生影响, 去除凋落物仅根系输入处理 (NL) 与去除根系仅凋落物输入处理 (NR) 呈现出相反趋势, 但差异不显著 (图 5)。与根系和凋落物同时输入处理相比

(CK):在去除凋落物仅根系输入条件下(NL),腐生-共生营养型在群落中数量升高,而病原-腐生-共生过渡营养型和腐生营养型数量降低;在去除根系仅凋落物输入条件下(NR),三种营养型变化呈现相反趋势,病原-腐生-共生过渡营养型和腐生营养型在群落中数量升高,而腐生-共生营养型数量降低;在无碳源输入条件下(NLR),病原-腐生-共生过渡营养型和腐生营养型数量降低,而腐生-共生营养型在群落中数量升高。

表 1 土壤真菌多样性指数与环境因子斯皮尔曼相关分析

Table 1 Spearman correlation analysis between soil fungal diversity index and environmental factors

	全氮 TN	全碳 TC	可溶性有机碳 DOC	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N	土壤含水量 SWC	微生物碳 MBC	微生物氮 MBN
Chao1 Chao1 指数	0.147	0.133	0.063	0.280	-0.476	0.070	0.035	0.196
Shannon 多样性指数	0.417	0.476	0.399	0.755 **	-0.315	0.678 *	0.245	0.210
Observed 丰富度指数	0.231	0.203	0.133	0.399	-0.476	0.175	0.098	0.189
Simpson 优势度指数	0.354	0.420	0.594	0.720 **	-0.245	0.587 *	0.224	0.189
Pielou 均匀度指数	0.441	0.497	0.497	0.748 **	-0.196	0.713 **	0.217	0.182

全氮:Total nitrogen;全碳:carbon;可溶性有机碳:Dissolved organic carbon;铵态氮:NH₄⁺-N;硝态氮:NO₃⁻-N;土壤含水量:Soil water content;微生物碳:Microbial biomass carbon;微生物氮:Microbial biomass nitrogen; ** 为 $P < 0.01$; * 为 $P < 0.05$

通过 FUNGuild 功能分组对上述 6 类营养型进行进一步的物种生态功能预测(图 6),结果表明不同土壤碳源输入会改变土壤真菌群落生态功能:其中已鉴定出的主要生态功能(相对丰度>10%)包括:内生-垃圾腐生-土壤腐生-未定义腐生真菌(14.7%)和未定义腐生真菌(13.1%)。具有内生-垃圾腐生-土壤腐生-未定义腐生真菌生态功能的优势类群为被孢霉科(Mortierellaceae)占比为 14.7%,在 CK、NL、NR、NLR 四种碳源输入处理中的相对丰度分别占据 12%、18%、10%和 22%;具有未定义腐生真菌生态功能的优势类群为肉座菌科(Hypocreaceae)占比为 8.1%,在 CK、NL、NR 和 NLR 四种碳源输入方式中分别占据 10%、9%、31%和 12%。说明在无凋落物输入处理下(NL、NLR)促进了被孢霉科真菌的富集,在去除根系仅凋落物输入处理下(NR)降低了肉座菌科真菌的相对丰度。

其次,生态功能中植物病原菌占比较大(6.5%),占主要地位的真菌为 Monographella。其余真菌的生态功能相对丰度在不同处理中占比均较低(相对丰度<5%),包括外生菌根(Ectomycorrhizal)和粪腐生真菌(Dung Saprotroph)等功能类群。其中,外生菌根在改善土壤微生物群落结构方面起到主导作用,而粪腐生真菌可以促进养分循环并且分解有机质。

3 讨论

3.1 有机碳输入方式对土壤真菌群落结构的影响

本研究结果表明不同有机碳输入方式对于群落结构中占据主导地位的菌门在数量占比上会产生影响(图 1):子囊菌门与接合菌门、担子菌门在去除凋落物处理和去除根系处理中呈现出相反变化趋势,去除根系处理中子囊菌门数量增加而接合菌门、担子菌门数量显著降低。意味着相比于去除凋落物的处理来说,去除

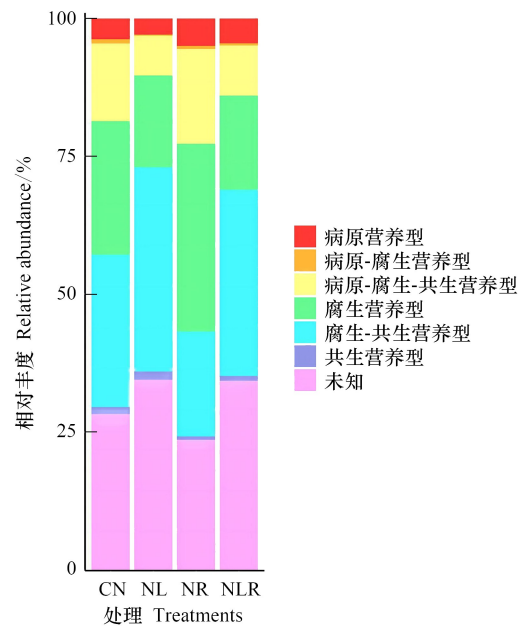


图 5 不同碳源输入方式下土壤真菌群落营养型组成
Fig.5 Trophic modes of soil fungal communities under different carbon source input methods

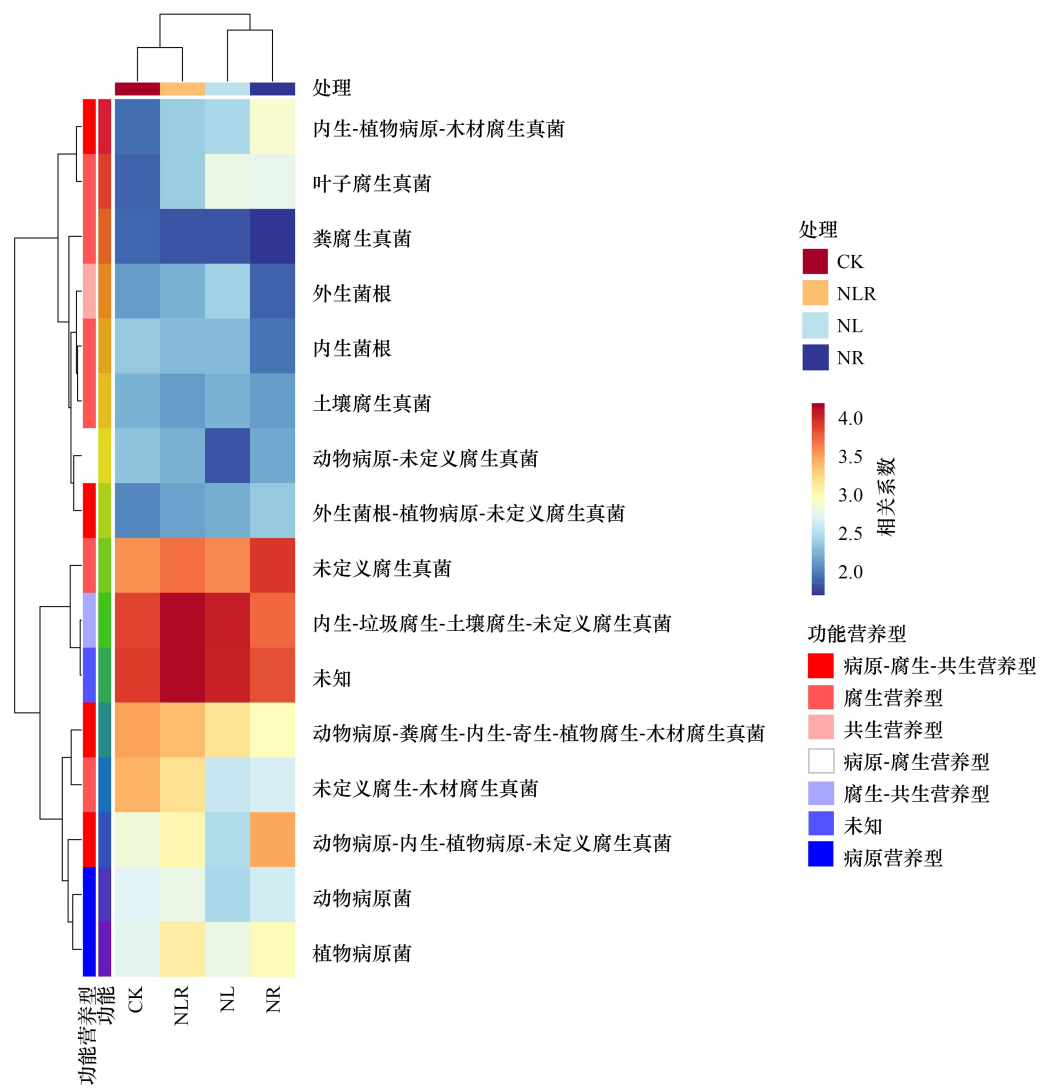


图 6 不同碳源输入方式下土壤真菌群落生态功能预测热图

Fig.6 Heat map of ecological function prediction of soil fungal communities under different carbon source input methods

根系处理对土壤真菌群落结构影响更大使得真菌生物量大幅减少, Kai^[45] 等研究结果也证实这一观点。出现这种现象的原因是真菌群落在根系层这种共生环境中会更加活跃, 去除根系处理对于根和土壤之间的能量流动有限制作用, 对于土壤中的菌根真菌起到负相关作用, 从而减少了真菌生物量^[46]。通过相关性分析发现不同有机碳输入方式下使土壤真菌群落结构发生改变的重要因子是微生物量氮 (MBN) (图 4), 这是由于不同碳源输入的处理提高了土壤中微生物量氮的含量, 为真菌群落生存所需的营养物质提供了来源; 并且真菌群落可以分解有机质, 将其同化的氮元素分解释放到自然环境中, 从而影响到微生物氮循环。虽然土壤中微生物量氮含量对于土壤真菌群落多样性没有显著影响 (表 1), 但乔沙沙^[47] 等研究证明土壤中微生物量氮含量通过影响植物的多样性和优势度间接对土壤真菌群落结构产生影响。通过以上分析说明微生物量氮的含量是主导不同有机碳输入方式下土壤真菌群落结构出现显著差异的关键因子, 这与 Hogberg^[48] 等和 Zhang^[49] 等探讨的土壤真菌群落结构主要驱动因子的结论趋于一致。

再进一步研究土壤真菌群落结构与理化性质之间的关系后, 说明碳源输入的差异, 对于环境因子和真菌群落结构下的关系会产生不同作用, 去除根系输入处理的影响要高于其他处理。研究结果与假设一保持一致, 但是根据王思琪^[50] 等研究发现不同碳源输入方式会使土壤微生物量氮含量增加, 而长期有机碳输入减少

将会大幅降低土壤微生物量氮含量。因此提出了一种推测:在长期实验条件下,微生物量氮含量增加的原因不仅仅是改变有机碳的输入方式这种单一反应造成的,而是季节与碳输入联合反应形成了一种多维效应导致这一结果。因此,未来研究的重点应放在进行长期控制碳源输入处理实验。

3.2 有机碳输入方式对土壤真菌群落功能类群的影响

本研究中不同有机碳输入方式使土壤真菌群落功能营养型中处于主导优势的功能类群在数量占比上发生变化(图5),对森林生态系统植物生长起着促进或者拮抗的作用,功能类群的变化可以增加生态系统稳定性,保障生态系统功能正常运行^[51-52]。无根系输入处理(NR、NLR)下的主要营养型是腐生营养型,与子囊菌门在不同凋落物和根系输入处理中相对丰度变化密切相关,且子囊菌门多数为腐生菌可以分解土壤中大部分难降解的有机质^[53],腐生菌与养分循环密切相关,可以通过降解死亡的细胞获取养分有助于碳源的分解^[54];在去除根系仅凋落物输入处理中(NR)占比最大的功能营养型是病原营养型,这是由于病原营养型真菌可以从植物凋落物中获取营养来源,从而增加植物病害的可能性。担子菌门是土壤菌根的主要成员,可以通过拮抗根部病原菌从而为植物生长提供健康的土壤微生物生态环境^[55],本研究中去除根系仅凋落物输入处理使担子菌门数量下降(图1),导致病原营养型数量占比上升。李朋发^[56]研究认为病原营养型真菌可以通过伤害寄主细胞来获取自身所需的营养物质,而腐生营养型真菌可以通过分解死亡的寄主细胞获取营养物质。

通过分析土壤真菌群落结构与功能类群说明不同碳源输入方式下土壤真菌群落结构的改变会引起真菌群落功能类群发生变化,使得腐生营养型真菌和病原营养型真菌数量占比方面有所变动。这一结果与假设二一致,但是对于能否得出在去除根系仅凋落物输入处理下病原营养型真菌对碳源输入的影响最为强烈这一结论尚不明确,进一步研究的重心应放在长期去除根系仅凋落物输入处理以及寄主细胞分解作用对病原型真菌的交互响应。同时未分类的营养型在不同处理中的相对丰度占多数且在物种生态功能类群预测方面有包含 Undefined 的真菌,这是由于 FUNGuild 数据库收录不全面,大部分的真菌功能有待完善,需要进一步研究真菌相关资源。在本文的 FUNGuild 分析中发现一些 OTUs 无法在科水平上被解析到定义的功能群中;而另一方面被定义的 OTU 则又属于各种功能群中,鉴于 FUNGuild 是以营养型为前提来对其功能类化,而个别真菌为了适应环境的改变在其生命期间不停的改变营养方式,所以呈现出同一真菌具有多样的功能营养型的现象^[57]。

4 结论

研究发现在冻融季控制凋落物和根系输入会对土壤理化因子产生影响使得土壤真菌群落结构发生改变,而群落结构的改变会引起群落功能类群的变化。在结构上,土壤真菌主要隶属于子囊菌门、接合菌门和担子菌门等9个菌门,子囊菌门和接合菌门在不同输入处理下相对丰度发生变化;在功能上,共检测出7种营养型和16种生态功能,其中腐生营养型真菌与病原营养型真菌对不同碳源输入处理下的响应更为强烈。

本研究开展的是短期野外控制实验,与长期室内实验相比有较大的不确定性,更易受到水热环境等因素的影响。因此对部分碳源输入方式下的实验结果缺乏数据支持,需要进一步长期观测,并且在冻融季节进行多次取样。在不同自然条件下、不同碳源输入处理基础上对微生物群落的整体反应机理等进行研究和剖析,有利于探索碳输入方式对土壤微生态环境变化的影响。

参考文献(References):

- [1] 万晓华,黄志群,何宗明,余再鹏,王民煌,刘瑞强,郑璐嘉. 改变碳输入对亚热带人工林土壤微生物生物量和群落组成的影响. 生态学报, 2016, 36(12): 3582-3590.
- [2] Sun M Q, Chen B Y, Wang H J, Wang N, Ma T G, Cui Y S, Luan T H, Chun S, Liu C G, Wang L C. Microbial interactions and roles in soil fertility in seasonal freeze-thaw periods under different straw returning strategies. Agriculture, 2021, 11(8): 779.
- [3] 贺云龙,齐玉春,彭琴,董云社,郭树芳,闫钟清,王丽芹,李兆林. 外源碳输入对陆地生态系统碳循环关键过程的影响及其微生物学驱动机制. 生态学报, 2017, 37(2): 358-366.
- [4] Thormann M N. Diversity and function of fungi in peatlands: a carbon cycling perspective. Canadian Journal of Soil Science, 2006, 86(Special

- Issue): 281-293.
- [5] He D, Guo Z M, Shen W J, Ren L J, Sun D, Yao Q, Zhu H H. Fungal communities are more sensitive to the simulated environmental changes than bacterial communities in a subtropical forest: the single and interactive effects of nitrogen addition and precipitation seasonality change. *Microbial Ecology*, 2023, 86(1): 521-535.
- [6] Li L J, Nijs I, De Boeck H J, Vindušková O, Reynaert S, Donnelly C, Zi L, Verbruggen E. Longer dry and wet spells alter the stochasticity of microbial community assembly in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2023: 108969.
- [7] Guo J J, Ling N, Chen Z J, Xue C, Li L, Liu L S, Gao L M, Wang M, Ruan J Y. Soil fungal assemblage complexity is dependent on soil fertility and dominated by deterministic processes. *New Phytologist*, 2020, 226(1): 232-243.
- [8] Tedersoo L, Bahram M, Pölme S, Anslan S, Riit T, Kõljalg U, Nilsson R H, Hildebrand F, Abarenkov K. Response to Comment on “Global diversity and geography of soil fungi”. *Science*, 2015, 349(6251): 936.
- [9] Aronson E L, Dubinsky E A, Helliker B R. Effects of nitrogen addition on soil microbial diversity and methane cycling capacity depend on drainage conditions in a pine forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 62: 119-128.
- [10] Liu S G, García-Palacios P, Tedersoo L, Guirado E, van der Heijden M G A, Wagg C, Chen D M, Wang Q K, Wang J T, Singh B K, Delgado-Baquerizo M. Phylotype diversity within soil fungal functional groups drives ecosystem stability. *Nature Ecology & Evolution*, 2022, 6(7): 900-909.
- [11] Meidute S, Demoling F, Bååth E. Antagonistic and synergistic effects of fungal and bacterial growth in soil after adding different carbon and nitrogen sources. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2334-2343.
- [12] Schneider T, Keiblinger K M, Schmid E, Sterflinger-Gleixner K, Ellersdorfer G, Roschitzki B, Richter A, Eberl L, Zechmeister-Boltenstern S, Riedel K. Who is who in litter decomposition? Metaproteomics reveals major microbial players and their biogeochemical functions. *The ISME Journal*, 2012, 6(9): 1749-1762.
- [13] Jeffery S, Verheijen F G A, van der Velde M, Bastos A C. A quantitative review of the effects of biochar application to soils on crop productivity using meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2011, 144(1): 175-187.
- [14] Sayer E J, Powers J S, Tanner E V J. Increased litterfall in tropical forests boosts the transfer of soil CO₂ to the atmosphere. *PLoS One*, 2007, 2(12): e1299.
- [15] Nadelhoffer K J, Boone R D, Bowden R D, Canary J D, Kaye J, Micks P, Ricca A, Aitkenhead J A, Lajtha K, McDowell W H. The DIRT experiment: Litter and root influences on forest soil organic matter stocks and function // Foster D, Aber J, eds. *Forests in Time: The Environmental Consequences of 1000 Years of Change in New England*. New Haven, CT: Yale University Press, 2004: 300-315.
- [16] Nielsen G A, Hole F. A study of the natural processes of incorporation of organic matter into soil in the University of Wisconsin arboretum. *Wisconsin Academy of Sciences, Arts, and Letters*, 1963, 52: 213-227.
- [17] Christiane Kramer, Susan Trumbore, Mats Frberg, Luz Maria, Cisneros Dozal, Dachun Zhang, Xiaomei Xu, Guaciara M Santos, Paul J Hanson. Recent (<4 year old) leaf litter is not a major source of microbial carbon in a temperate forest mineral soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(7).
- [18] Baumert V L, Forstner S J, Zethof J H T, Vogel C, Heitkötter J, Schulz S, Kögel-Knabner I, Mueller C W. Root-induced fungal growth triggers macroaggregation in forest subsoils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 157: 108244.
- [19] Chen D M, Zhang Y, Lin Y B, Zhu W X, Fu S L. Changes in belowground carbon in *Acacia crassicaarpa* and *Eucalyptus urophylla* plantations after tree girdling. *Plant and Soil*, 2010, 326(1): 123-135.
- [20] Wang Q K, He T X, Wang S L, Liu L. Carbon input manipulation affects soil respiration and microbial community composition in a subtropical coniferous forest. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2013, 178/179: 152-160.
- [21] Chen W B, Su F L, Pang Z Q, Mao Q G, Zhong B Q, Xiong Y M, Mo J, Lu X K. The removal of understory vegetation can rapidly alter the soil microbial community structure without altering the community assembly in a primary tropical forest. *Geoderma*, 2023, 429, 116180.
- [22] Leff J W, Wieder W R, Taylor P G, Townsend A R, Nemergut D R, Grandy A S, Cleveland C C. Experimental litterfall manipulation drives large and rapid changes in soil carbon cycling in a wet tropical forest. *Global Change Biology*, 2012, 18(9): 2969-2979.
- [23] Crow S E, Lajtha K, Filley T R, Swanston C W, Bowden R D, Caldwell B A. Sources of plant-derived carbon and stability of organic matter in soil: implications for global change. *Global Change Biology*, 2009, 15(8): 2003-2019.
- [24] Yano Y, Lajtha K, Sollins P, Caldwell B A. Chemistry and dynamics of dissolved organic matter in a temperate coniferous forest on andic soils: effects of litter quality. *Ecosystems*, 2005, 8(3): 286-300.
- [25] Vandenkoornhuyse P, Husband R, Daniell T J, Watson I J, Duck J M, Fitter A H, Young J P W. Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem. *Molecular Ecology*, 2002, 11(8): 1555-1564.
- [26] 白玉. 改变碳输入对樟树人工林土壤有机碳组分的影响[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2021.
- [27] Read D J. The structure and function of the ericoid mycorrhizal root. *Annals of Botany*, 1996, 77(4): 365-374.
- [28] 欧静, 韦小丽, 何跃军, 刘仁阳, 陈训. 接种 ERM 真菌对桃叶杜鹃幼苗的促生效应及生理生化影响. *林业科学*, 2013, 49(7): 48-56.
- [29] 赵媛, 周旺明, 王守乐, 周莉, 于大炮, 代力民. 冻融对温带森林土壤碳、氮矿化作用的影响. *生态学杂志*, 2017, 36(6): 1548-1554.
- [30] 王广帅, 杨晓霞, 任飞, 张振华, 贺金生. 青藏高原高寒草甸非生长季温室气体排放特征及其年度贡献. *生态学杂志*, 2013, 32(8): 1994-2001.

- [31] 孙嘉鸿, 郭彤, 董彦民, 王升忠, 汪祖丞, 徐志伟. 冻融循环对金川泥炭沼泽土壤微生物量及群落结构的影响. 生态学报, 2022, 42(7): 2763-2773.
- [32] 娄鑫, 谷岩, 张军辉, 韩士杰. 冬季积雪与冻融对土壤团聚体稳定性的影响. 北京林业大学学报, 2016, 38(4): 63-70.
- [33] 王娇月, 宋长春, 王宪伟, 王丽丽. 冻融作用对土壤有机碳库及微生物的影响研究进展. 冰川冻土, 2011, 33(2): 442-452.
- [34] 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.
- [35] 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.
- [36] 朱纪元, 李景科, 高梅香, 胡媛媛, 张雪萍. 帽儿山红松人工林鞘翅目成虫群落小尺度空间异质性变化特征. 生态学报, 2017, 37(6): 1975-1986.
- [37] Kotrocó Z, Juhos K, Biró B, Kocsis T, Pabár S A, Varga C, Fekete I. Effect of detritus manipulation on different organic matter decompositions in temperate deciduous forest soils. Forests, 2020, 11(6): 675.
- [38] Brant J B, Myrold D D, Sulzman E W, Brant J B, Myrold D D, Sulzman E W. International association for ecology root controls on soil microbial community structure in forest soils published by: springer in cooperation with international association for ecology root controls on soil microbial community structure in forest soils. Oecologia, 2006, 148(4): 650-659.
- [39] 王军邦, 杨屹涵, 左婵, 顾峰雪, 何洪林. 气候变化和人类活动对中国陆地生态系统总初级生产力的影响厘定研究. 生态学报, 2021, 41(18): 7085-7099.
- [40] 李媛媛, 廖家辉, 许子乾, 徐涵涓, 倪娟平, 黄石德, 阮宏华. 有机肥和植被去除管理对人工林土壤节肢动物多样性的影响. 生态学报, 2021, 41(7): 2761-2769.
- [41] 谢婷婷, 刘明辉, 袁中勋, 张松林, 李昌晓. 不同泥沙埋深对几种一年生草本枯落物分解及养分动态特征的影响. 生态学报, 2020, 40(21): 7755-7766.
- [42] Magoč T, Salzberg S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. Bioinformatics, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [43] Yu H M, Zhang L M, Wang Y, Xu S N, Liu Y, Wang S Q. Response of soil bacterial communities to organic carbon input under soil freeze-thaw in forest ecosystems. European Journal of Soil Biology, 2021, 105: 103333.
- [44] 陈祖静, 高尚坤, 陈园, 何平会, 何茜, 邱权, 李吉跃. 短期施肥对桉树人工林土壤真菌群落结构及功能类群的影响. 生态学报, 2020, 40(11): 3813-3821.
- [45] Feng K, Zhang Z J, Cai W W, Liu W Z, Xu M Y, Yin H Q, Wang A J, He Z L, Deng Y. Biodiversity and species competition regulate the resilience of microbial biofilm community. Molecular Ecology, 2017, 26(21): 6170-6182.
- [46] Subke J A, Hahn V, Battipaglia G, Linder S, Buchmann N, Cotrufo M F. Feedback interactions between needle litter decomposition and rhizosphere activity. Oecologia, 2004, 139(4): 551-559.
- [47] 乔沙沙, 周永娜, 柴宝峰, 贾彤, 李鑫. 关帝山森林土壤真菌群落结构与遗传多样性特征. 环境科学, 2017, 38(6): 2502-2512.
- [48] Ma H K, Bai G Y, Sun Y, Kostenko O, Zhu X, Lin S, Ruan W B, Zhao N X, Bezemer T M. Opposing effects of nitrogen and water addition on soil bacterial and fungal communities in the Inner Mongolia steppe: a field experiment. Applied Soil Ecology, 2016, 108: 128-135.
- [49] Wang J Q, Shi X Z, Zheng C Y, Suter H, Huang Z Q. Different responses of soil bacterial and fungal communities to nitrogen deposition in a subtropical forest. Science of the Total Environment, 2021, 755: 142449.
- [50] 王思琪, 张利敏, 刘月, 陈羽彤. 冻融季帽儿山森林改变有机碳输入方式对土壤活性氮含量的影响. 生态学报, 2023, 43(8): 3236-3246.
- [51] Schadt C, Rosling A. Comment on "Global diversity and geography of soil fungi". Science, 2014, 346(6213): 1-11.
- [52] 杨海水, 熊艳琴, 王琪, 郭伊, 戴亚军, 许明敏. AM 真菌物种多样性: 生态功能、影响因素及维持机制. 生态学报, 2016, 36(10): 2826-2832.
- [53] 孙倩, 吴宏亮, 陈阜, 康建宏. 宁夏中部干旱带不同作物根际土壤真菌群落多样性及群落结构. 微生物学通报, 2019, 46(11): 2963-2972.
- [54] 姚姿婷, 杨炎昌, 姚潇, 何团, 郑虚, 蒙炎成, 邹承武. 不同轮作模式对马铃薯根际土壤真菌群落的影响. 南方农业学报, 2021, 52(5): 1255-1262.
- [55] Erica S, Adam B, Mikael B D, Clemmensen Karina E, Lindahl Björn D. Changes in fungal communities along a boreal forest soil fertility gradient. The New Phytologist, 2015, 207(4): 1145-58.
- [56] 李朋发, 杨龙, 李桂龙, 徐后娟, 王玉军, 李忠佩. 基于 FUNGuild 的镰刀菌根腐病发病烟株根际真菌群落研究. 中国烟草学报, 2019, 25(2): 63-68.
- [57] 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.