

DOI: 10.20103/j.stxb.202305050938

阚海明, 陈超, 马晓东, 徐恒康, 庞卓, 张国芳, 武菊英. 华北退化荒地建植豆类和禾本植物人工草地对土壤真菌群落结构和功能的影响. 生态学报, 2023, 43(24): 10092-10103.

Kan H M, Chen C, Ma X D, Xu H K, Pang Z, Zhang G F, Wu J Y. Effects of artificial grassland establishment via legume and grass plants on the structure and function of soil fungal community in a degraded wasteland of Northern China. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(24): 10092-10103.

# 华北退化荒地建植豆类和禾本植物人工草地对土壤真菌群落结构和功能的影响

阚海明<sup>1</sup>, 陈超<sup>1</sup>, 马晓东<sup>2,\*</sup>, 徐恒康<sup>1</sup>, 庞卓<sup>1</sup>, 张国芳<sup>1</sup>, 武菊英<sup>1</sup>

1 北京市农林科学院草业花卉与景观生态研究所, 北京 100093

2 山东农业工程学院林业工程学院, 济南 250100

**摘要:**阐明植被恢复过程中土壤真菌群落的变化及其生态功能, 对于制定科学有效的退化生态系统管理措施有重要参考价值。利用扩增子高通量测序技术和生物信息学分析解析了华北退化荒地自然恢复(对照组, CK)和建植豆科植物和禾本植物人工草地(分别为 LG 和 GG 处理)过程中土壤真菌群落结构和功能群特征差异。结果表明: (1) 退化荒地土壤表层样品中共获取 6315 个真菌 OTU, 隶属于 17 门 60 纲 145 目 347 科 896 属, 优势菌门为 Ascomycetes, Mortierellomycota 和 Basidiomycetes, LG 处理相较于 CK 的 Basidiomycetes 相对丰度明显升高, GG 处理相较于 CK 的 Mortierellomycota 相对丰度明显提高。(2) 土壤真菌功能群类型以腐生真菌为主, 共生真菌次之, 病原真菌占比最少。建植人工草地对腐生真菌和共生真菌相较于病原真菌的功能群组成影响更明显, 并导致腐生真菌相对丰度升高, 共生真菌相对丰度降低。(3) 土壤真菌群落结构受植物物种丰富度、根系生物量等植被参数变化的显著( $P < 0.05$ )影响, 且与土壤有机碳、总氮、速效氮、总磷等土壤养分水平显著( $P < 0.05$ )相关。本研究的结果有助于深入理解建植人工草地对土壤真菌群落结构和功能的影响, 并为华北退化荒地植被恢复策略提供理论依据。

**关键词:** 植被恢复策略; 人工草地建植; 真菌群落结构; 退化荒地; 真菌功能群

## Effects of artificial grassland establishment via legume and grass plants on the structure and function of soil fungal community in a degraded wasteland of Northern China

KAN Haiming<sup>1</sup>, CHEN Chao<sup>1</sup>, MA Xiaodong<sup>2,\*</sup>, XU Hengkang<sup>1</sup>, PANG Zhuo<sup>1</sup>, ZHANG Guofang<sup>1</sup>, WU Juying<sup>1</sup>

1 Institute of Grassland, Flowers and Ecology, Beijing academy of agriculture and forestry sciences, Beijing 100093, China

2 Department of Forestry Engineering, Shandong Agriculture and Engineering University, Jinan 250100, China

**Abstract:** Elucidating the changes in soil fungal communities and their ecological functions during vegetation restoration is an important reference value for developing scientific and effective management measures of the degraded ecosystems. This study aims to reveal the effects of artificial grassland establishment via legume and grass plants on the structure and functional groups of soil fungal community in a degraded wasteland of Northern China. Using high-throughput amplicon sequencing and bioinformatics analysis, the differences of soil fungal community structure and functional group characteristics in natural restoration (control group, CK) and artificial grassland establishment via legume and grass plants (LG and GG treatments, respectively) of degraded wasteland in Yanqing county, Beijing were analyzed. The results showed that: (1) 6315 operational taxonomic units (OTUs) were collected from soil surface samples of the degraded wasteland,

**基金项目:**北京市农林科学院创新能力建设专项(KJCX20230305, QNJJ202333, KJCX20230220)

**收稿日期:**2023-05-05; **采用日期:**2023-11-13

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

belonging to 17 phyla, 60 classes, 145 orders, 347 families, and 896 genera. The dominant phyla were Ascomycetes, Mortierellomycota and Basidiomycetes, and they accounted for 73.3%—99.6% of the total amount of soil fungi from each samples. The relative abundance of Ascomycetes and Basidiomycota presented opposite patterns of change in each treatment sample. Compared with CK, the relative abundance of Basidiomycetes in LG treatment was remarkably higher than that in CK. The relative abundance of soil nutrient indicator taxa Mortierellomycota in GG treatment was remarkably higher than that in CK, and this coincided with the fact that soil nutrients in GG treatment was highest among all treatments. The number of soil fungal biomarkers in the samples treated by LG was the highest. (2) Prediction of microbial functional groups based on FUNGuild software was conducted, and saprophytic fungi was the main functional group of soil fungi, followed by symbiotic fungi, and pathogenic fungi accounted for the least proportion. Compared with pathogenic fungi, the establishment of artificial grassland had more obvious influence on the functional group composition of saprophytic fungi and symbiotic fungi, and led to the increase in the relative abundance of saprophytic fungi and decrease in the relative abundance of symbiotic fungi. (3) Soil fungal community structure was significantly ( $P < 0.05$ ) affected by vegetation parameters such as plant species richness and root biomass, and significantly ( $P < 0.05$ ) correlated with soil nutrients such as soil organic carbon, total nitrogen, available nitrogen, and total phosphorus. The results were helpful to understand the influence of artificial grassland on the structure and function of soil fungal community, and provided theoretical basis for vegetation restoration strategy of the degraded wasteland in Northern China.

**Key Words:** vegetation restoration strategy; artificial grassland establishment; fungal community structure; degraded wasteland; fungal functional groups

草原是全球生态系统的重要组成部分,约占地球陆地总面积的 40%和世界农业用地的 69%<sup>[1-2]</sup>。在全球气候变暖、人类活动频繁的大背景下,草地退化现象普遍存在且日趋严重<sup>[3-4]</sup>。统计数据显示,约 50%的草地遭受不同程度的退化,而干旱和半干旱地区尤其<sup>[5]</sup>。草原退化会导致诸如土壤碳流失等环境问题,大大削弱草原生态系统作为稳定碳库的关键作用,最终导致全球碳循环等功能过程和土壤养分条件的恶化<sup>[6-8]</sup>。退化荒地是干旱半干旱地区重要的土地资源,采用建植人工草地的方式,可达到退化荒地植被生态恢复的目的。植被生态恢复效果的好坏,关系到提高区域生产力、保护区域生态环境、保障资源可持续利用和经济可持续发展等关键问题<sup>[6]</sup>。因此,开展人工草地建植工程,充分利用好退化荒地资源,有利于实现人与自然和谐相处,最终驱动区域经济、生态、社会的协调发展<sup>[1]</sup>。

土壤真菌群落不仅是土壤生态系统功能的指标,在采取适当管理措施的情况下还可促进植被恢复过程和系统健康,因而是退化生态系统恢复的重要基础<sup>[9-10]</sup>。微生物功能群是根据微生物的生态功能,对生态功能相似的物种进行的功能分组<sup>[11]</sup>。其中,土壤真菌功能群主要反映的是真菌对植物宿主的依赖程度<sup>[12-14]</sup>。例如,菌根等共生真菌与 70%—90%的陆生植物建立共生关系,通过提高宿主植物在环境胁迫下的养分利用效率和抗性来促进植物生长<sup>[15-16]</sup>。腐生真菌对植物生长和代谢活动至关重要,因其能够降解凋落物和腐殖质,为土壤中的植物提供额外的养分<sup>[17]</sup>。病原真菌是生物胁迫的主要来源,它们侵染特定宿主并改变植被的种间竞争模式,最终导致植物群落多样性的变化<sup>[18]</sup>。前人研究揭示了共生真菌、腐生真菌和病原真菌在调节草原生态系统中植被-土壤-微生物关系中的协同作用<sup>[19-20]</sup>。迄今为止,多数研究关注了天然植被演替过程中土壤微生物群落的变化。然而,高度退化草原的植被覆盖率极低,利用自然恢复策略修复高度退化草原效果不佳,建植人工草地是恢复这类草原植被的常用管理策略<sup>[21]</sup>。

紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 和无芒雀麦 (*Bromus inermis*) 均为多年生优质牧草,在我国有非常广阔的种植面积,在改良土壤、培肥地力、保持水土等方面具有独特作用<sup>[22-23]</sup>。本研究在华北半干旱区的退化土地长期生态定位站开展了田间试验,通过模拟退化草原不同生态管理措施,探明建植豆科植物和禾本植物人工草地

化因子等数据,分析土壤真菌结构与环境因子之间的关系。本研究的结果可从土壤真菌的角度为华北地区退化草原生态系统管理策略提供理论依据,并为开拓紫花苜蓿等优质牧草的市场应用前景提供实践依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区域概况

本研究的田间试验位于北京市延庆区的退化土地长期生态定位站(40°27'53"N,115°50'23"E;501 m a.s.l.;图1)。本区域属温带半干旱地区,是典型的大陆性季风气候,夏季炎热多雨,冬季寒冷干燥。年平均气温(MAT)为8.4℃,其中7月(24.0℃)是最热的月份。年平均降水量(MAP)为466 mm,降雨主要集中在植物生长期(5—9月),约占年降雨总量的85.6%,年平均相对湿度为62%。土壤质地介于壤土和沙土之间,研究区域的植被以荒地植物为主,包括白草(*Pennisetum centrasianicum*)、臭草(*Melica scabrosa*)和茵陈蒿(*Artemisia capillaris*)等。

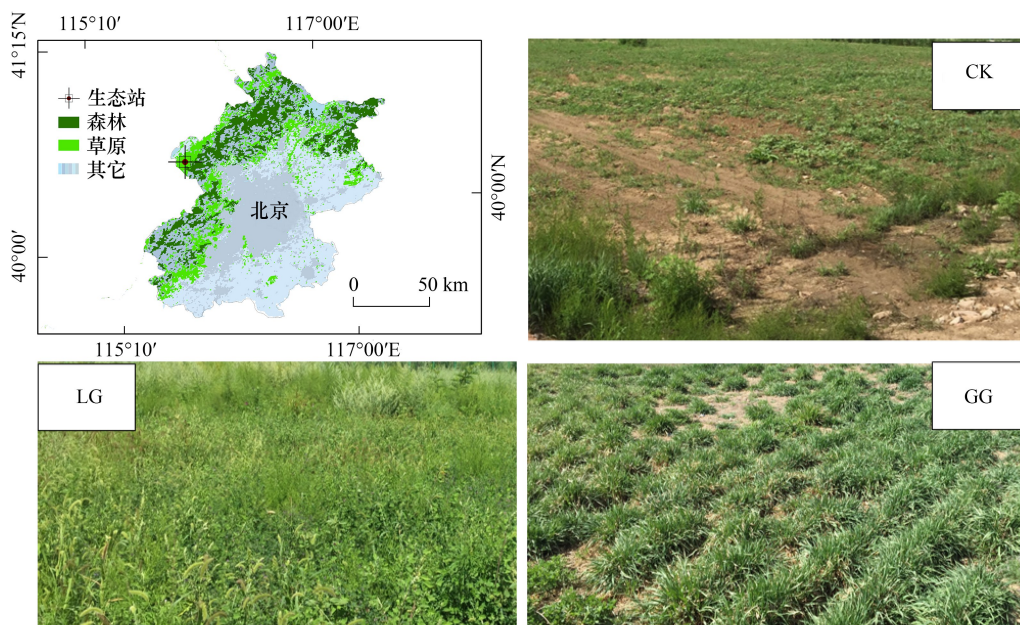


图1 研究区域和实验设置

Fig.1 Study area and experimental setup

CK:对照;LG:豆科植物人工草地;GG:禾本科植物人工草地

### 1.2 试验设计与取样

该试验于2015年在土壤质地和植被分布相对均匀的退化荒地,设置3种退化草原生态系统植被恢复方法:

- (1)对照组(CK):通过植被的自然生长恢复退化荒地;
- (2)建植豆科植物草地(LG):2015年5月,将紫花苜蓿种子以200粒/m<sup>2</sup>的密度免耕播种;
- (3)建植禾本科植物草地(GG):2015年5月,将无芒雀麦种子以200粒/m<sup>2</sup>的密度免耕播种。

播种后,先灌溉和施肥以确保草的成活,此后植被的生长主要依靠天然降水。植被建立后,将研究区域围栏封育。每个处理区域约1 hm<sup>2</sup>,本研究随机选取9块10 m×10 m的样地(图1),每种管理方法各三块样地,每块样地相距约50 m。2019—2021年的每年8月份,在每个样点随机抽取3个平行的1 m×1 m样方,记录每样方内植物的种名,用尺子测量每株植物的高度,计算植物总盖度,依照Steinauer等人<sup>[24]</sup>描述的方法在样方内收割植被的地上部分并留样,用于测定植被生物量。每种管理方法需在3块样地的9个样方内取9个重复土壤样本,3年时间共取27个样本。

### 1.3 土壤样品采集

土壤样品取样前,先去除土层顶部的凋落物。使用不锈钢取土钻从每个样方分别收集土层 0—30 cm 深度的五个子样品,用手去除土壤子样品中的根、土壤动物、石子后,将各样方中相同土层深度的子样品混合,过 2 mm 网筛后将其分为几个部分:一部分保存在 -80℃ 用于 DNA 提取,一部分保存在 4℃ 用于测定有效氮(AN)、有效磷(AP)等指标,剩余部分置于阴凉干燥处自然风干,测定土壤中的 pH、总有机碳(TOC)、总氮(TN)、总磷(TP)等土壤理化指标。

### 1.4 土壤理化性质测定

使用 pH 计在土壤/水(体积比 1:2.5)悬浮液中测定土壤 pH 值。土壤容重(BD)采用环刀法测定;利用环刀采集不稳定的天然土壤样品并烘干,BD 计算公式为:BD (g/cm<sup>3</sup>) = 土壤干重(g)/土壤体积(cm<sup>3</sup>)。TOC 含量通过重铬酸钾氧化外加热法测定<sup>[25]</sup>。AN 通过碱解还原扩散法测定<sup>[26]</sup>。采用碳酸氢钠萃取法和钼蓝法测定 AP<sup>[27]</sup>。使用元素分析仪(Vario Macro,德国)测定 TN。使用紫外可见分光光度计测定 TP(钼蓝法)。

### 1.5 Illumina MiSeq 测序

利用 E.Z.N.A.® 土壤 DNA 试剂盒(Omega Bio-tek, 美国)从土壤样品中提取微生物群落基因组 DNA 样品,使用琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop2000 紫外可见分光光度计(Thermo Scientific, 美国)检测 DNA 提取物的浓度和纯度。以引物对 ITS3 \_ KYO2F (5'-GATGAAGAACGYAGYRAA- 3') 和 ITS4R (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 扩增真核生物核糖体 RNA 基因 ITS 的 ITS2 区。PCR 反应体系包含 5× TransStart FastPfu 缓冲液 4 μL、2.5 mM dNTPs 2 μL、正向引物 (5 μM) 0.8 μL、反向引物 (5 μM) 0.8 μL、TransStart FastPfu DNA 聚合酶 0.4 μL、模板 DNA 10 ng,最后用 dd H<sub>2</sub>O 补足至总体积 20 μL。PCR 扩增条件如下:95℃ 初始变性 3 min,95℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 45 s,共 27 个循环,72℃ 单次延伸 10 min,4℃ 结束。每个样本 3 个重复,从 2% 琼脂糖凝胶中提取 PCR 产物并使用 AxyPrep DNA 凝胶提取试剂盒(Axygen Biosciences, 美国)进行回收产物纯化,并使用 Quantus™ 荧光计(Promega, 美国)进行定量,合格的 PCR 产物在 Illumina MiSeq 平台上机测序。使用 Fastp 0.20.0 版本对原始数据进行解复用和质量过滤<sup>[28]</sup>,按照标准协议(Majorbio 公司,中国上海)对获得的序列进行合并。根据不同聚类程序的特点,生成操作分类单元(OTU)和扩增子序列变体(ASVs),分别分析真菌群落多样性和真菌功能群<sup>[29]</sup>。本研究使用 UPARSE 7.1 版软件以 97% 的相似度为界限对 OTU 进行聚类,使用 QIIME2 管道中的 DADA2 插件<sup>[30]</sup>,通过噪声抑制进行质量控制拼接后,从优化的序列中获得 ASVs。使用 QIIME2 中的 Naive Bayes 分类器对 ASVs 进行物种分类分析。

### 1.6 数据处理

采用 LEfSe 方法 (<http://huttenhower.sph.harvard.edu/lefse/>) 识别人工草地的潜在微生物生物标志物。使用 R v.3.5.4 (<https://www.r-project.org/>) 软件中的 phyloseq R 包进行微生物 α 多样性(包括 Chao 和 Shannon 指数)分析。使用 vegan R 包进行非度量多维尺度分析(NMDS),并利用相似性分析(ANOSIM)来确定各处理的样本之间的差异。使用 vegan R 包进行主坐标约束性分析(CAP)可视化微生物组成与环境因素之间的关系,Mantel 检测用于检验微生物群落距离矩阵和环境变量距离矩阵之间的相关性和显著性。利用 FUNGuild 软件用于分析真菌的功能群,有助于预测不同植被恢复方法实施过程中土壤真菌群落的潜在功能。基于数据库 FUNGuild 中已报告的各项水平的功能群数据,本研究中的真菌群落划分为三大类功能群,即病原真菌、腐生真菌和共生真菌<sup>[31]</sup>。根据 Lozano 等人<sup>[32]</sup>描述的功能群分类标准,本研究中 39.2% 的 ASV 可以被归入三个真菌功能群,其中病原真菌占 5.0%,腐生真菌占 25.1%,共生真菌占 9.2%;91.3% 的共生真菌是丛枝菌根真菌(AMF)。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤真菌群落组成

通过对 81 个样本的微生物多样性数据分析,共获得高质量 ITS 序列 708 8322 个,它们聚集成 6 315 个

OTU,隶属于真菌 17 门 60 纲 145 目 347 科 896 属。三个最丰富的真菌门是 Ascomycetes、Mortierellomycota、Basidiomycetes,占土壤真菌总数的 73.3%—99.6%。所有样品中相对丰度最高的真菌门是 Ascomycetes,CK、LG 和 GG 处理下 Ascomycetes 的平均丰度分别为 68.5%、63.5% 和 58.9%。LG 处理相较于 CK 的 Basidiomycetes 相对丰度明显升高,GG 处理相较于 CK 的 Mortierellomycota 相对丰度明显提高(图 2)。属水平上,人工草地的建植显著 ( $P < 0.05$ ) 增加 *Fusarium*、*Gibellulopsis*、*Beauveria*、*Trichocladium*、*Aphanoascus*、*Lophotrichus* 的丰度,但显著 ( $P < 0.05$ ) 降低 *Paraphoma*、*Titaea*、*Periconia* 的丰度(图 2)。使用 LEfSe 方法中的一对多比较策略确定各处理潜在的土壤微生物生物标志物。LG 处理下真菌生物标志物(阈值为 3)的丰度均高于 CK,而 GG 处理下真菌生物标志物的丰度低于 CK(图 3)。

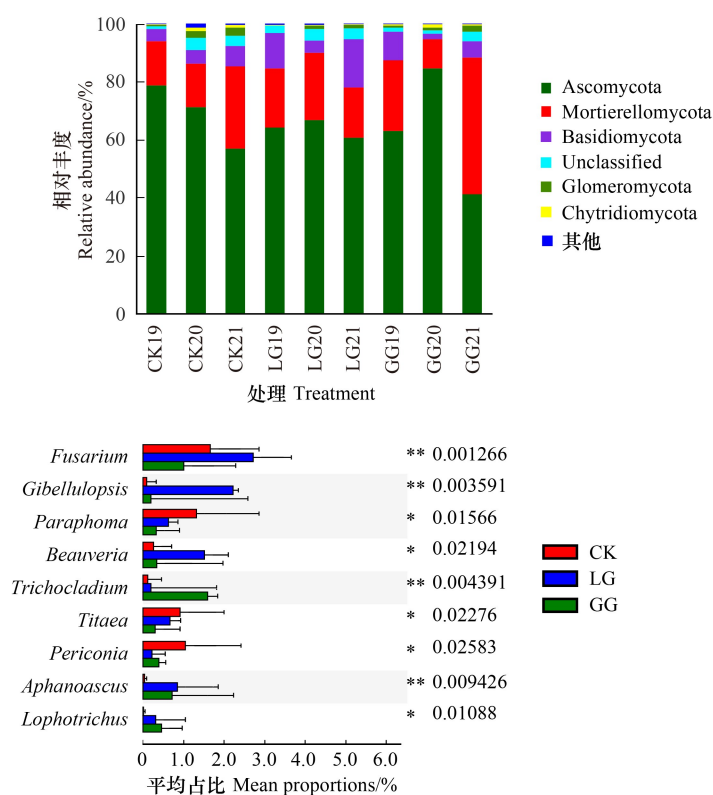


图 2 2019—2021 年 CK、LG 和 GG 处理下退化草地的土壤真菌群落组成

Fig.2 Microbial community composition in degraded grasslands under the CK, LG, and GG treatments from 2019 to 2021

标有 \*、\*\* 和 \*\*\* 的值分别表示 0.05、0.01 和 0.001 水平的显著差异,19、20、21 分别表示于 2019 年、2020 年、2021 年取样;Ascomycota:子囊菌门;Mortierellomycota:被孢霉门;Basidiomycota:担子菌门;Unclassified 未分类的;Glomeromycota:球囊菌门;Chytridiomycota:壶菌门;Others:其它的;*Fusarium*:镰刀菌属;*Gibellulopsis*:吉贝罗普西属;*Paraphoma*:异茎点霉属;*Beauveria*:白僵菌属;*Trichocladium*:短梗蠕孢属;*Titaea*:Titaea 属;*Periconia*:黑团孢属;*Aphanoascus*:隐囊菌属;*Lophotrichus*:瓶毛壳属

## 2.2 土壤真菌群落多样性

本研究选取 Chao 丰富度指数和香农多样性指数作为微生物  $\alpha$  多样性代表。如图 4a 所示,CK 和 GG 处理间的  $\alpha$  多样性指数无显著差异。LG 处理下真菌 Chao 丰富度显著 ( $P < 0.05$ ) 高于 CK,但与 GG 处理无显著差异;而 LG 处理下的真菌的香农多样性显著 ( $P < 0.05$ ) 高于 GG,但与 CK 无显著差异。基于 OTU 之间 Bray-Curtis 距离的 NMDS 分析可应用于可视化各处理间的群落水平相似性。NMDS 结果显示,GG 处理下真菌群落结构与 CK 相比完全分离,LG 处理下真菌群落结构与其它处理未分离(图 4)。ANOSIM 用于确定不同处理的样品间的距离是否显著大于各处理的内部样品间的距离。结果表明,不同处理方法显著影响了土壤真菌群落的结构(基于 999 个随机排列,  $R = 0.421$ ,  $P < 0.001$ ),LG 处理相较于其他处理对土壤真菌群落结构影响

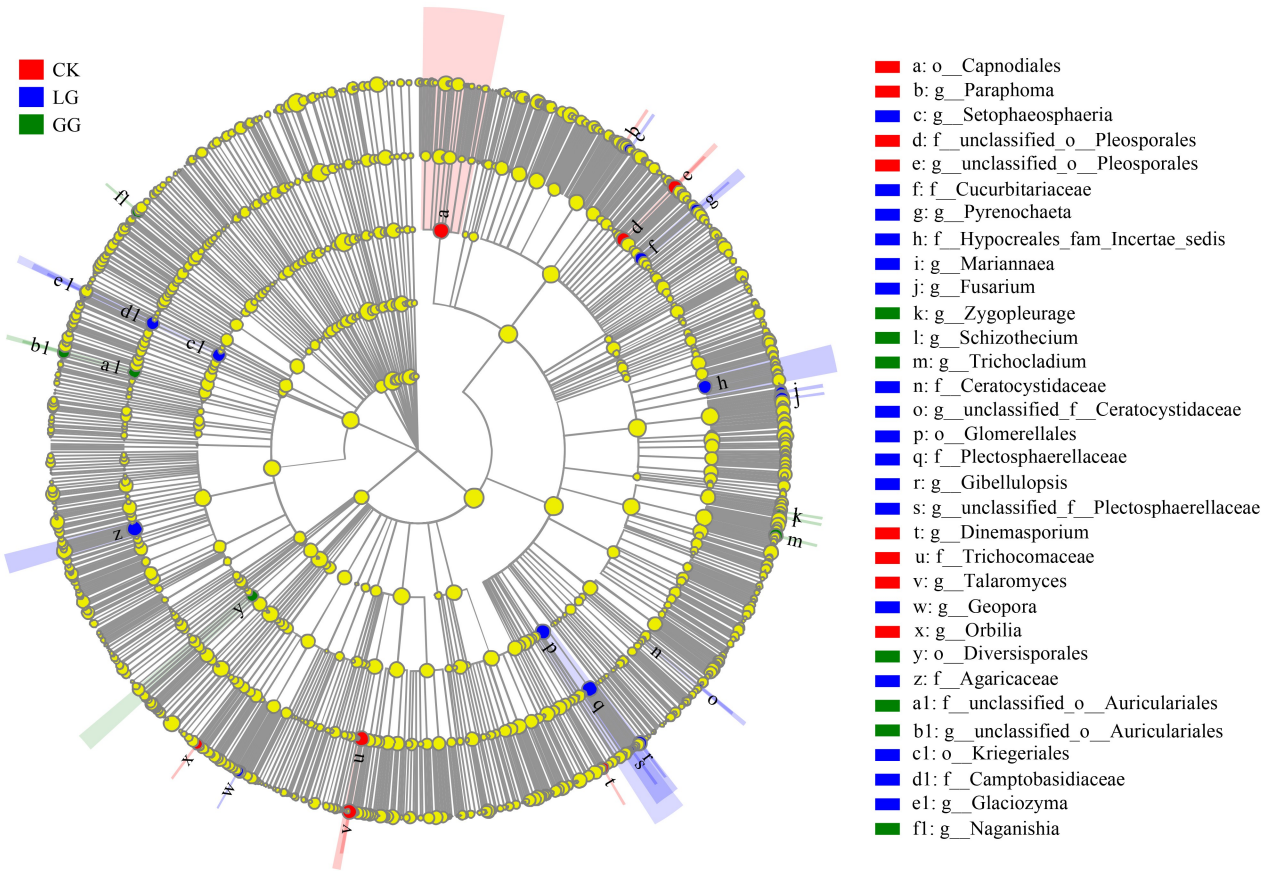


图 3 基于 LEfSe 分析的退化荒地植被恢复与重建的真菌群落的生物标志物

Fig.3 Microbial biomarkers of fungal communities for vegetation restoration of a degraded grassland based on the LEfSe analysis

LEfSe:线性判别分析;进化分枝图的圆圈从内到外表示从门到属的分类群,处理间丰度差异显著的分类群用彩色圆点标记,图中显示了高于阈值 3.0 的真菌 LEfSe 分析结果

更大(图 4)。

### 2.3 真菌群落多样性关联环境因子

基于各处理样品的土壤理化性质和 Bray-Curtis 距离等指标,采用 CAP 分析了土壤真菌群落结构与环境因子之间的关系。如图 5 所示,三组样品的真菌群落结构分离明显:CK 的真菌群落结构落在第一象限,LG 处理的真菌群落结构落在第三、四象限,GG 处理的真菌群落结构落在第二象限。土壤容重和凋落物质量等因素落在第一象限,AN 落在第二象限,pH、植被物种丰富度和生物量、TOC、TN、TP、AP 等因素均落在三、四象限。Mantel 检验分析表明,TOC、TN、TP、AN、植物物种丰富度、根系生物量、凋落物质量均与真菌群落结构显著( $P < 0.05$ )相关(表 1)。

表 1 土壤真菌群落结构与环境因子的 Mantel 检验分析

Table 1 Mantel test analysis between soil fungal community structure and environmental factors across all samples

特性 Property	土壤容重 Bulk density/ (g/cm <sup>3</sup> )	pH	TOC	TN	TP	AN	AP	植物物种丰富度 Plant species richness	根系生物量 Root biomass/ (g/m <sup>2</sup> )	枝叶生物量 Shoot biomass/ (g/m <sup>2</sup> )	凋落物质量 Litter quantity/ (g/m <sup>2</sup> )	
真菌 Fungi	<i>r</i>	0.177	0.070	0.256	0.304	0.344	0.252	0.145	0.383	0.208	0.085	0.325
	<i>P</i>	0.084	0.423	0.001	0.001	0.001	0.001	0.195	0.001	0.014	0.315	0.001

pH:酸碱度;TOC:总有机碳 Total organic C;TN:总氮 Total N;TP:总磷 Total P;AN:有效氮 Available N;AP:有效磷 Available P

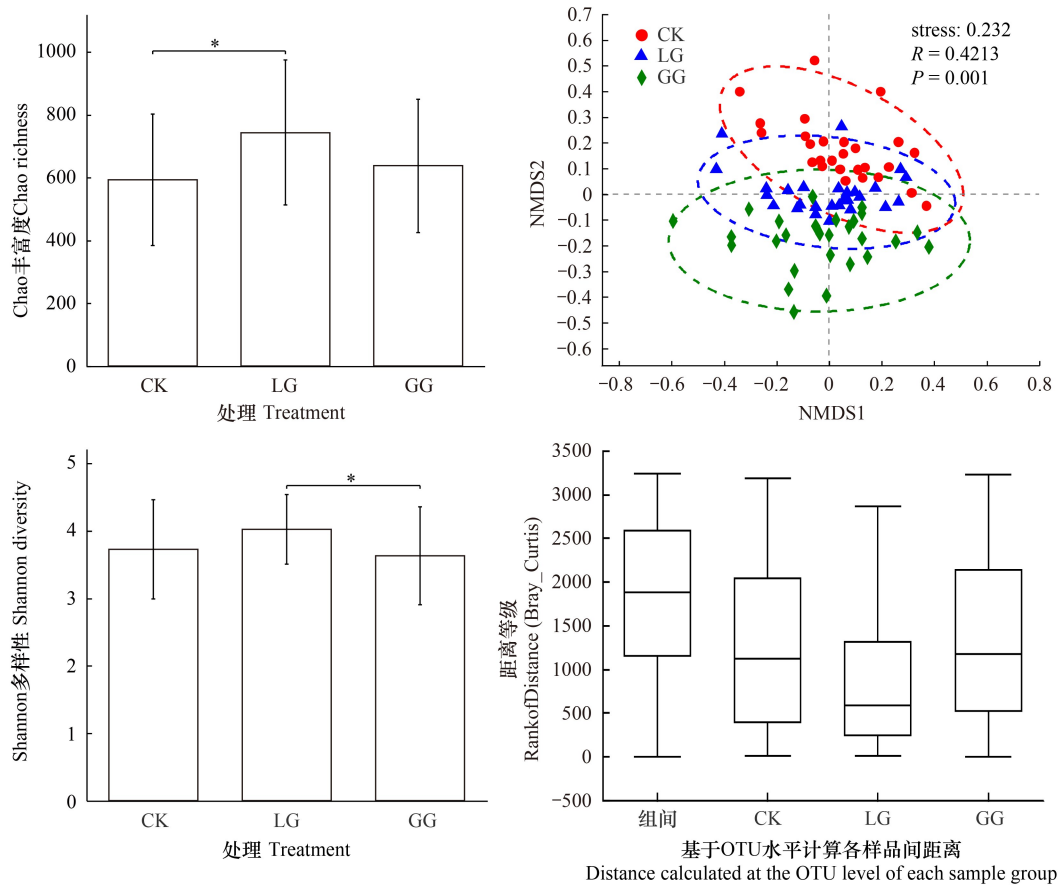


图4 CK、LG、GG处理下退化荒地植被恢复与重建的土壤真菌多样性指数

Fig.4 Soil fungal diversity indices under CK, LG, and GG treatments for vegetation restoration of the degraded wasteland. Chao richness index of the fungal community

## 2.4 土壤真菌群落功能群特征

本研究利用 FUNGuild 预测了退化荒地土壤真菌功能群的分类,并重点关注了可以完全归为共生真菌、腐生真菌和病原真菌三大类功能群的土壤真菌。如图 6 所示,丰度最大的功能群是“未定义的腐生真菌”,在 CK、LG 和 GG 处理下的平均丰度分别为 23.72%、17.32%和 18.65%,而“内生真菌-凋落物腐生真菌-土壤腐生真菌-未定义的腐生真菌”的平均丰度在 CK、LG 和 GG 处理下的平均丰度分别为 19.69%、19.49%和 30.60%。可归为三大类功能群的土壤真菌中,共生真菌包括外生菌根真菌(EMF)、AMF、兰花菌根真菌和石蜡菌根真菌,建植豆类和禾本植物人工草地显著( $P < 0.05$ )增加了 EMF 的丰度,但降低了 AMF、兰花菌根真菌和石蜡菌根真菌的丰度。本研究关注了六种主要腐生真菌,即木材腐生真菌、土壤腐生真菌、植物腐生真菌、叶腐生真菌、粪便腐生真菌和未定义的腐生真菌,以及同时具有两种或两种以上功能类型的腐生真菌。与 CK 相比, LG 和 GG 处理显著( $P < 0.05$ )增加了总体腐生真菌的丰度,而单一或多种功能类型腐生真菌的丰度在不同处理之间差异很大。病原真菌主要有植物和动物病原真菌, LG 和 GG 处理相较于 CK 的植物和动物病原真菌的丰度显著( $P < 0.05$ )升高(图 6)。

如图 7 所示,病原真菌相对丰度最高的 4 个真菌纲是 Agaricomycetes、Dothideomycetes、Cystobasidiomycetes、Chytridiomycetes,它们占病原真菌总数量的 98.3%—99.1%。所有样品中相对丰度最高的病原真菌纲是 Agaricomycetes, CK、LG 和 GG 处理下 Agaricomycetes 的平均丰度分别为 88.1%、86.6%和 85.6%。LG 处理增加 Cystobasidiomycetes、Chytridiomycetes 的丰度,但降低 Agaricomycetes 的丰度。GG 处理增加 Dothideomycetes、Cystobasidiomycetes 的丰度,也降低了 Agaricomycetes 的丰度。如图 7 所示,腐生真菌相对丰

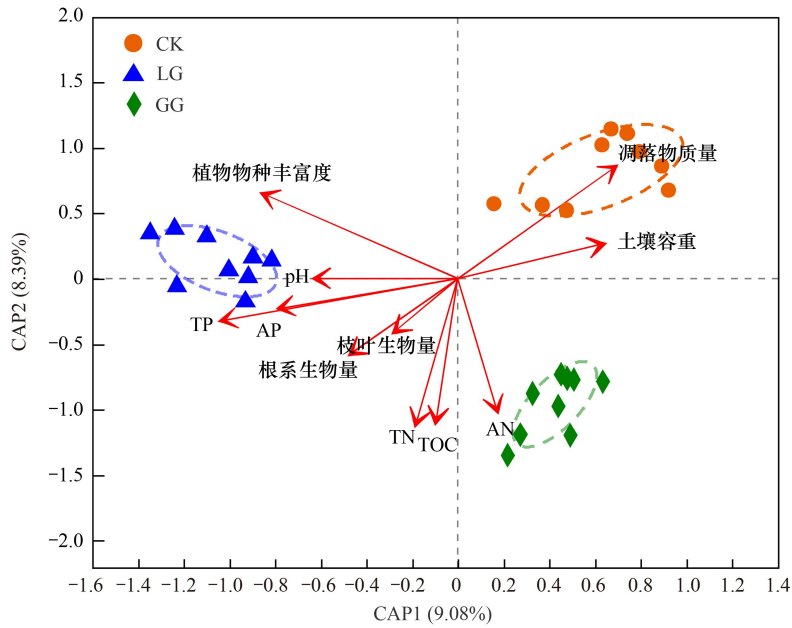


图5 退化荒地各处理土壤样品的真菌群落与环境因子之间关系的主坐标约束分析(CAP)

Fig.5 Constrained analysis of principal coordinates (CAP) of fungal communities with environmental factors under CK, LG, and GG treatments for the degraded wasteland

pH:酸碱度;TOC:总有机碳;TN:总氮;TP:总磷;AN:有效氮;AP:有效磷

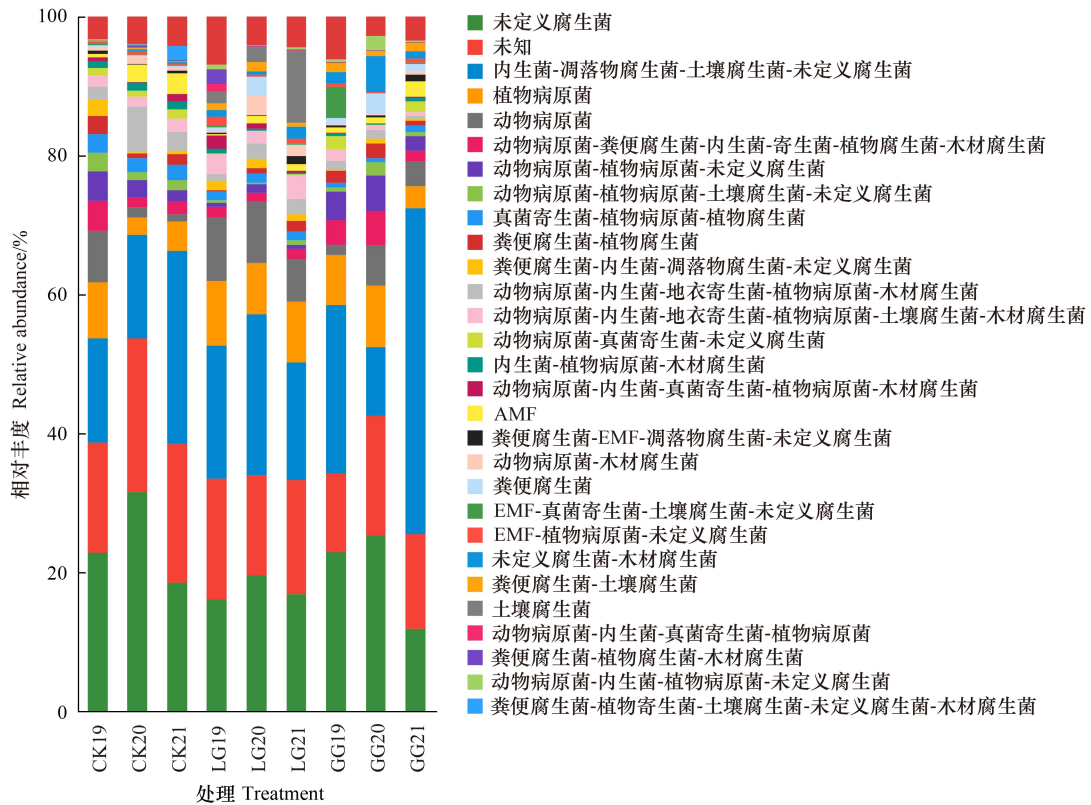


图6 各处理下基于 FUNGuild 分类的真菌功能群相对丰度

Fig.6 Relative abundance of fungal groups classified by FUNGuild under the CK, LG, and GG treatments



度最高的 7 个真菌纲是 Sordariomycetes、Dothideomycetes、Eurotiomycetes、Agaricomycetes、Leotiomyces、Pezizomycotina\_cls\_Incertae\_sedis、Tremellomycetes, 它们占腐生真菌总数的 98.3%—99.1%。所有样品中相对丰度最高的病原真菌纲是 Sordariomycetes, CK、LG 和 GG 处理下 Sordariomycetes 的平均丰度分别为 44.2%、44.8% 和 56.9%。LG 处理显著 ( $P < 0.05$ ) 增加 Agaricomycetes、Leotiomyces、Pezizomycotina\_cls\_Incertae\_sedis 的丰度, 但显著 ( $P < 0.05$ ) 降低 Dothideomycetes、Eurotiomycetes、Tremellomycetes 的丰度。GG 处理显著 ( $P < 0.05$ ) 增加 Sordariomycetes、Leotiomyces、Pezizomycotina\_cls\_Incertae\_sedis 的丰度, 但显著 ( $P < 0.05$ ) 降低 Dothideomycetes、Eurotiomycetes 的丰度。如图 7 所示, 共生真菌相对丰度最高的 7 个真菌纲是 Glomeromycetes、unclassified\_p\_Glomeromycota、Agaricomycetes、Eurotiomycetes、Leotiomyces、Paraglomeromycetes、Dothideomycetes, 它们占土壤真菌总数的 99.9%—100.0%。所有样品中相对丰度最高的病原真菌纲是 Glomeromycetes, CK、LG 和 GG 处理下 Glomeromycetes 的平均丰度分别为 90.3%、73.8% 和 86.9%。LG 处理显著 ( $P < 0.05$ ) 增加 unclassified\_p\_Glomeromycota、Eurotiomycetes、Paraglomeromycetes、Dothideomycetes 的丰度, 但显著 ( $P < 0.05$ ) 降低 Glomeromycetes、Agaricomycetes 的丰度。GG 处理显著 ( $P < 0.05$ ) 增加 unclassified\_p\_Glomeromycota、Agaricomycetes、Dothideomycetes 的丰度, 但显著 ( $P < 0.05$ ) 降低 Glomeromycetes、Eurotiomycetes、Paraglomeromycetes 的丰度。

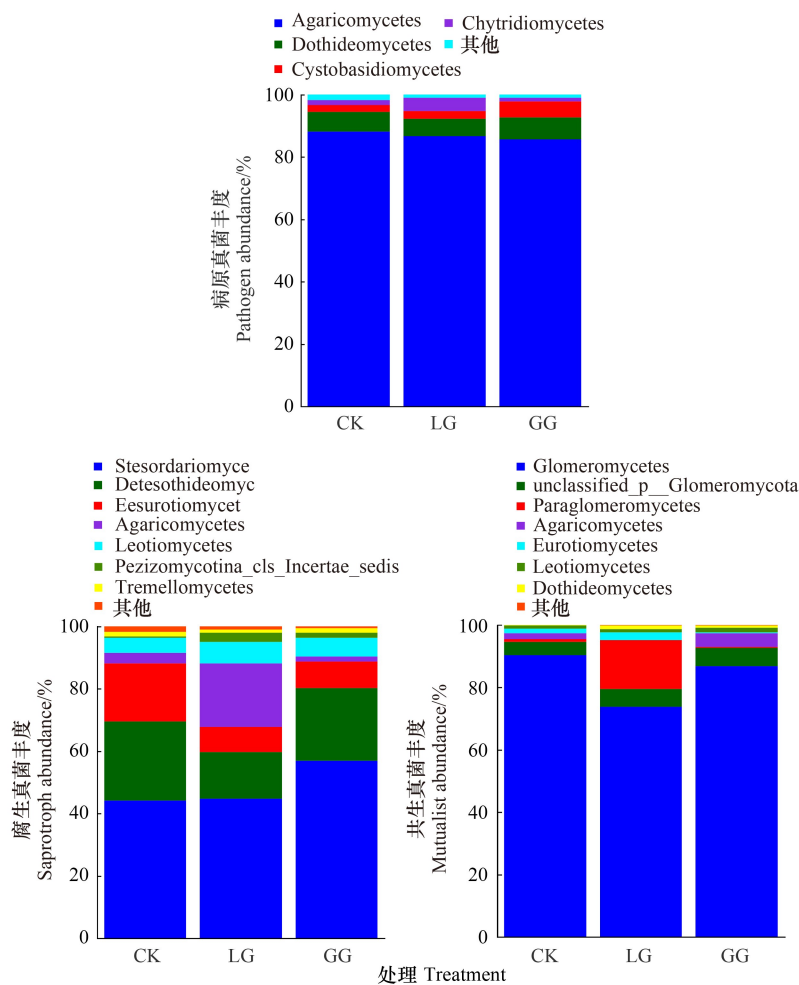


图 7 CK、LG 和 GG 处理下沙荒地真菌功能群的组成

Fig.7 Fungal group composition in the degraded wastelands under the CK, LG, and GG treatments

Agaricomycetes: 伞菌纲; Dothideomycetes: 座囊菌纲; Cystobasidiomycetes: 囊担菌纲; Chytridiomycetes: 壶菌纲; Sordariomycetes: 粪壳菌纲; Eurotiomycetes: 散囊菌纲; Leotiomyces: 锤舌菌纲; Pezizomycotina\_cls\_Incertae\_sedis: 盘菌亚门未分类纲; Tremellomycetes: 银耳纲; Glomeromycetes: 球囊菌纲; unclassified\_p\_Glomeromycota: 球囊菌门未分类纲; Paraglomeromycetes: 类球囊霉纲

### 3 讨论

#### 3.1 建植人工草地对土壤真菌群落结构和多样性的影响

本研究分析了不同分类水平下土壤真菌群落组成的变化。绝大多数样品中丰度最高的真菌门是 Ascomycetes,这与黄土高原子午岭林区、东北大兴安岭林区土壤真菌群落的研究结论相似<sup>[33-34]</sup>,即 Ascomycetes 是草地土壤样品中的优势真菌门。Ascomycetes 是一类可分解木质素、角质素等难降解有机物的土壤腐生真菌,易受到植物种类和植物残茬的强烈影响<sup>[35]</sup>。另一类自然界中分布较广的腐生真菌是 Basidiomycota,它们在各处理中呈现出与 Ascomycetes 相反的变化规律,这与 Ascomycetes 优势度有较大关联<sup>[36-37]</sup>。Mortierellomycota 因与土壤养分关系密切被视为养分指示类群,它们在禾本植物草地中丰度最高,这与禾本植物草地土壤养分更丰富的事实相吻合<sup>[38]</sup>。一般认为微生物分类水平越低,生态功能相对越保守,因此,不同处理间差异显著的真菌属也值得关注<sup>[39]</sup>。豆类植物草地相较于其他草地增加了 *Fusarium* 和 *Beauveria* 的丰度,诸多研究表明它们可能是动物病原体和植物内生菌<sup>[40-41]</sup>。与此同时,建植人工草地抑制了病原真菌 *Paraphoma* 的生长<sup>[42]</sup>。

在本研究中,建植豆类植物草地增加了 Chao 丰富度和 Shannon 多样性等微生物  $\alpha$  多样性,但建植禾本植物草地对微生物  $\alpha$  多样性无显著影响。NMDS 分析表明,不同处理下的土壤真菌群落结构受植物功能类型影响较大。这与 Cline 等<sup>[43]</sup> 研究结果相一致,即禾本科植物、固氮豆科植物等植物功能类型是土壤真菌群落  $\beta$  多样性的主要驱动因素之一。LEfSe 结果显示,LG 处理的样品中真菌生物标志物的数量最多,其次是 CK,GG 处理最少。由于不同植物功能群与土壤养分水平相关性较强,作者们认为该结果是不同植物功能群宿主自身和土壤养分水平差异共同结果<sup>[44]</sup>。由此可知,人工草地用草的植物功能类型选择对退化荒地植被恢复与重建进程有较大影响。

#### 3.2 微生物群落与环境因子的关系

CAP 分析结果显示,土壤理化性质(pH、土壤容重、TOC、N、P 等)、植被生物量、物种丰富度和凋落物质量等是微生物群落组成的重要驱动因素。根据土壤 pH、磷、物种丰富度等环境变量,LG 处理的真菌群落可沿 CAP1 轴分离,GG 处理的真菌群落可根据土壤碳、氮等环境变量沿 CAP2 轴分离。此外,Mantel 检验显示,真菌群落结构受植物物种丰富度、根系生物量、凋落物质量等植被参数的显著影响,并与 TOC、TN、AN、TP 等土壤养分含量显著相关。上述结果表明,随着 LG 和 GG 处理对土壤养分的快速消耗,复杂凋落物和土壤有机质的真菌分解类群丰度增加,并显著影响了相关微生物群落及其活动<sup>[33]</sup>。

#### 3.3 真菌群落的功能预测

FUNGuild 是预测土壤真菌功能群的实用工具<sup>[45]</sup>。结果显示,不同植被恢复方法改变了土壤真菌功能群的丰度。在本研究中,建植人工草地显著增加了 EMF 的相对丰度,但降低了真菌功能群中其他共生真菌的相对丰度。以往的研究表明,EMF 具备通过释放胞外酶降解和获取有机氮的能力,EMF 的增殖表明在有机养分含量相对较高的生态系统中,植物根系通过诱导外生菌根增加来提高有机养分的可获得性<sup>[46-47]</sup>。此外,本研究中还发现建植人工草地刺激了腐生真菌的总体数量增加,表明人工草地的有机养分形态更加丰富。需要注意的是,人工草地中病原真菌的相对丰度增加,表明在人工草地上放牧可能会增加对人类健康的不利风险<sup>[8]</sup>。

不同的植被恢复方法还改变了土壤真菌功能群的组成。纲水平上,建植人工草地对腐生真菌和共生真菌的组成比病原真菌组成影响更显著。研究表明,不同植物功能群关联的根系性状差异显著影响腐生真菌的组成,但对病原真菌群落组成影响很小<sup>[29, 37]</sup>。由于豆类植物和禾本植物优势度的增加,导致植被群落多样性和凋落物生化性质的变化,后者是决定腐生真菌群落组成的关键因素<sup>[29, 39]</sup>。在本研究中,禾本植物的凋落物顽固性强、生物可利用度低,因而 Sordariomycetes 等具有木质素分解能力的真菌丰度增加,相对富含氮的豆类植物有利于特定的 Agaricomycetes、Leotiomycetes 纲的腐生真菌和 Eurotiomycetes、Paraglomeromycetes、

Dothideomycetes 纲的共生真菌生长。

#### 4 结论

在本研究中,研究区域土壤表层样品的土壤真菌包括 17 门 60 纲 145 目 347 科 896 属。退化荒地植被恢复与重建过程中土壤真菌群落主要由 Ascomycetes、Mortierellomycota 和 Basidiomycetes 组成,土壤真菌功能群类型以腐生真菌为主,共生真菌次之,病原真菌最少。土壤真菌群落结构受地上植被变化的显著影响,且与土壤养分水平显著相关。建植人工草地对腐生真菌和共生真菌相较于病原真菌的群落组成影响更明显。在土壤养分消耗更大、凋落物输入更丰富的人工草地中,腐生真菌的丰度增加,共生真菌的丰度减少,这种适应性变化有利于增强真菌群落对有机养分的利用效率,表明土壤真菌在退化荒地植被恢复的土壤养分循环中发挥着关键的调节作用。综上,本研究的结果有助于理解建植人工草地与土壤真菌群落结构和功能之间的联系,并为退化草原生态系统植被恢复策略提供重要参考。

#### 参考文献(References):

- [ 1 ] Bardgett R D, Bullock J M, Lavorel S, Manning P, Schaffner U, Ostle N, Chomel M, Durigan G, Fry E L, Johnson D, Lavallee J M, Le Provost G, Luo S, Png K, Sankaran M, Hou X Y, Zhou H K, Ma L, Ren W B, Li X L, Ding Y, Li Y H, Shi H X. Combatting global grassland degradation. *Nature Reviews Earth & Environment*, 2021, 2(10): 720-735.
- [ 2 ] O'Mara F P. The role of grasslands in food security and climate change. *Annals of Botany*, 2012, 110(6): 1263-1270.
- [ 3 ] Gang C C, Zhou W, Chen Y Z, Wang Z Q, Sun Z G, Li J L, Qi J G, Odeh I. Quantitative assessment of the contributions of climate change and human activities on global grassland degradation. *Environmental Earth Sciences*, 2014, 72(11): 4273-4282.
- [ 4 ] Yang C, Sun J. Impact of soil degradation on plant communities in an overgrazed Tibetan alpine meadow. *Journal of Arid Environments*, 2021, 193: 104586.
- [ 5 ] Gibbs H K, Salmon J M. Mapping the world's degraded lands. *Applied Geography*, 2015, 57: 12-21.
- [ 6 ] Bengtsson J, Bullock J, Egoh B N, Everson C, Everson T, O'Connor T, O'Farrell P, Smith H G, Lindborg R. Grasslands-more important for ecosystem services than You might think. *Ecosphere*, 2019, 10(2): e02582.
- [ 7 ] Su Y Z, Li Y L, Zhao H L. Soil properties and their spatial pattern in a degraded sandy grassland under post-grazing restoration, inner Mongolia, northern China. *Biogeochemistry*, 2006, 79(3): 297-314.
- [ 8 ] Sun J J, Wang P B, Wang H B, Yu X J. Changes in plant communities, soil characteristics, and microbial communities in alpine meadows degraded to different degrees by pika on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Global Ecology and Conservation*, 2021, 27: e01621.
- [ 9 ] 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.
- [ 10 ] Harris J. Soil microbial communities and restoration ecology: facilitators or followers? *Science*, 2009, 325(5940): 573-574.
- [ 11 ] Lozano Yudi M, Aguilar-Trigueros Carlos A, Julien R, Rillig Matthias C. Drought induces shifts in soil fungal communities that can be linked to root traits across twenty-four plant species. *The New Phytologist*, 2021, 232(5): 1917-1929.
- [ 12 ] Aguilar-Trigueros C A, Powell J R, Anderson I C, Antonovics J, Rillig M C. Ecological understanding of root-infecting fungi using trait-based approaches. *Trends in Plant Science*, 2014, 19(7): 432-438.
- [ 13 ] Lutzoni F, Nowak M D, Alfaro M E, Reeb V, Miadlikowska J, Krug M, Arnold A E, Lewis L A, Swofford D L, Hibbett D, Hilu K, James T Y, Quandt D, Magallón S. Contemporaneous radiations of fungi and plants linked to symbiosis. *Nature Communications*, 2018, 9: 5451.
- [ 14 ] Treseder K K, Lennon J T. Fungal traits that drive ecosystem dynamics on land. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2015, 79(2): 243-262.
- [ 15 ] Kivlin S N, Hawkes C V, Treseder K K. Global diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(11): 2294-2303.
- [ 16 ] Susana R E, Helena T, Marta C, Sérgio T, Ruben H, Maarja Ö, Mari M. Arbuscular mycorrhizal fungi communities from tropical Africa reveal strong ecological structure. *The New Phytologist*, 2017, 213(1): 380-390.
- [ 17 ] van der Heijden M G A, Bardgett R D, van Straalen N M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 2008, 11(3): 296-310.
- [ 18 ] Bever J D, Mangan S A, Alexander H M. Maintenance of plant species diversity by pathogens. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2015, 46: 305-325.
- [ 19 ] Semchenko M, Leff J W, Lozano Y M, Saar S, Davison J, Wilkinson A. Fungal diversity regulates plant-soil feedbacks in temperate grassland. *Science Advances*, 2018, 4(11): eaau4578.
- [ 20 ] Wang T, Yang K X, Ma Q Y, Jiang X, Zhou Y Q, Kong D L, Wang Z Y, Parales R E, Li L, Zhao X, Ruan Z Y. Rhizosphere microbial community diversity and function analysis of cut Chrysanthemum during continuous monocropping. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 801546.

- [21] Shang Z H, Ma Y S, Long R J, Ding L M. Effect of fencing, artificial seeding and abandonment on vegetation composition and dynamics of 'black soil land' in the headwaters of the Yangtze and the Yellow Rivers of the Qinghai-Tibetan Plateau. *Land Degradation & Development*, 2008, 19(5): 554-563.
- [22] 赵海新, 黄晓群, 朱占林, 贾娟霞. 刈割对无芒雀麦、苜蓿混播草层根体积根重及含糖量的影响. *草原与草坪*, 2007, 27(4): 50-53, 57.
- [23] 宋云华, 钟建明, 马琼媛, 李林. 紫花苜蓿不同基肥配比效应的研究. *草业科学*, 2008, 25(3): 43-46.
- [24] Steinauer K, Heinen R, Hannula S, De Long J R, Huberty M, Jongen R, Wang M G, Bezemer T M. Above-belowground linkages of functionally dissimilar plant communities and soil properties in a grassland experiment. *Ecosphere*, 2020, 11(9): e03246.
- [25] Nelson D W, Sommers L E. Total carbon, organic carbon, and organic matter. *Agronomy Monographs*. Madison, WI, USA: American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, 2015: 539-579.
- [26] Sahrawat K L, Burford J R. Modification of the alkaline permanganate method for assessing the availability of soil nitrogen in upland soils. *Soil Science*, 1982, 133(1): 53-57.
- [27] Ståhlberg S. A fixation method for estimation of the P requirement of soils. A trial application in Swedish cultivated soils. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 1982, 32(1): 3-11.
- [28] Chen S F, Zhou Y Q, Chen Y R, Gu J. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): i884-i890.
- [29] Francioli D, van Rijssel S Q, van Ruijven J, Termorshuizen A J, Anne Cotton T E, Dumbrell A J, Raaijmakers J M, Weigelt A, Mommer L. Plant functional group drives the community structure of saprophytic fungi in a grassland biodiversity experiment. *Plant and Soil*, 2021, 461(1): 91-105.
- [30] Bolyen E, Rideout J R, Dillon M R, Bokulich N A, Caporaso J G. QIIME 2: Reproducible, interactive, scalable, and extensible microbiome data science. *Nature Biotechnology*, 2019, 37: 852-857.
- [31] 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.
- [32] Lozano Y M, Carlos A A T, Flaig Isabel C, Matthias C R. Root trait responses to drought are more heterogeneous than leaf trait responses. *Functional Ecology*, 2020, 34(11): 2224-2235.
- [33] Wang K B, Zhang Y W, Tang Z S, Shanguan Z P, Chang F, Jia F A, Chen Y P, He X H, Shi W Y, Deng L. Effects of grassland afforestation on structure and function of soil bacterial and fungal communities. *Science of the Total Environment*, 2019, 676: 396-406.
- [34] Jiang S, Xing Y J, Liu G C, Hu C Y, Wang X C, Yan G Y, Wang Q G. Changes in soil bacterial and fungal community composition and functional groups during the succession of boreal forests. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 161: 108393.
- [35] Beimforde C, Feldberg K, Nylinder 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.
- [36] 邵志敏. 海州露天矿生态恢复过程中土壤真菌群落演替规律研究[D]. 阜新: 辽宁工程技术大学, 2019.
- [37] 王海英, 郭守玉, 黄满荣, LUMBSCH H, Thorsten, 魏江春. 子囊菌较担子菌具有更快的进化速率和更高的物种多样性. *中国科学: 生命科学*, 2010, 40(8): 731-737, 765.
- [38] Yuan J, Wen T, Zhang H, Zhao M L, Penton C R, Thomashow L S, Shen Q R. Predicting disease occurrence with high accuracy based on soil macroecological patterns of Fusarium wilt. *The ISME Journal*, 2020, 14(12): 2936-2950.
- [39] Zanne A, Abarenkov K, Afkhami M E, Aguilar-Trigueros C, Bates S T, Bhatnagar J M, Busby P, Christian N, Cornwell W, Crowther T, Flores-Moreno H, Floudas D, Gazis R, Hibbett D, Kennedy P, Lindner D, Maynard D, Milo A M, Nilsson R H, Powell J, Schildhauer M, Schilling J, Treseder K. Fungal functional ecology: bringing a trait-based approach to plant-associated fungi. *Biological Reviews*, 2020, 95(2): 409-433.
- [40] Barelli L, Moonjely S, Behie S W, Bidochka M J. Fungi with multifunctional lifestyles: endophytic insect pathogenic fungi. *Plant Molecular Biology*, 2016, 90(6): 657-664.
- [41] Francioli D, van Ruijven J, Bakker L, Mommer L. Drivers of total and pathogenic soil-borne fungal communities in grassland plant species. *Fungal Ecology*, 2020, 48: 100987.
- [42] Mommer L, Cotton T A, Raaijmakers J, Termorshuizen A, van Ruijven J, Hendriks M, van Rijssel S Q, van de Mortel J E, van der Paauw J W, Schijlen E, Smit-Tiekstra A, Berendse F, de Kroon H, Dumbrell A. Lost in diversity: the interactions between soil-borne fungi, biodiversity and plant productivity. *New Phytologist*, 2018, 218(2): 542-553.
- [43] Cline L C, Hobbie S E, Madritch M D, Buyarski C R, Tilman D, Cavender-Bares J M. Resource availability underlies the plant-fungal diversity relationship in a grassland ecosystem. *Ecology*, 2018, 99(1): 204-216.
- [44] Zhang X X, Wang B Y, Liu Z W. Impacts of plant secondary metabolites from conifer litter on the decomposition of *Populus purdomii* litter. *Journal of Forestry Research*, 2019, 30(6): 2237-2245.
- [45] Gil-Martínez M, López-García Á, Domínguez M T, Kjølner R, Navarro-Fernández C M, Rosendahl S, Marañón T. Soil fungal diversity and functionality are driven by plant species used in phytoremediation. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 153: 108102.
- [46] Phillips R P, Brzostek E, Midgley M G. The mycorrhizal-associated nutrient economy: a new framework for predicting carbon-nutrient couplings in temperate forests. *New Phytologist*, 2013, 199(1): 41-51.
- [47] Lindahl B, Tunlid A. Ectomycorrhizal fungi-potential organic matter decomposers, yet not saprotrophs. *New Phytologist*, 2015, 205(4): 1443-1447.