

DOI: 10.20103/j.stxb.202308281847

李启研, 赵珮杉, 高广磊, 丁国栋, 张英, 刘明慧. 樟子松根内真菌分子生态网络复杂性及稳定性. 生态学报, 2024, 44(16): 7226-7237.

Li Q Y, Zhao P S, Gao G L, Ding G D, Zhang Y, Liu M H. Complexity and stability of molecular ecological network of root-associated fungi associated with *Pinus sylvestris* var. *mongolica*. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(16): 7226-7237.

樟子松根内真菌分子生态网络复杂性与稳定性

李启研¹, 赵珮杉¹, 高广磊^{1,2,3,4,5,*}, 丁国栋^{1,3,4,5}, 张英^{1,3,4,5}, 刘明慧¹

¹ 北京林业大学水土保持学院, 北京 100083

² 林木资源高效生产全国重点实验室, 北京 100083

³ 宁夏盐池毛乌素沙地生态系统国家定位观测研究站, 盐池 751500

⁴ 林业生态工程教育部工程研究中心, 北京 100083

⁵ 水土保持国家林业和草原局重点实验室, 北京 100083

摘要: 根内真菌通过复杂的相互作用发挥其生态功能影响宿主植物生长发育, 但其互作网络复杂性和稳定性特征及其影响因素尚不明确。为揭示樟子松(*Pinus sylvestris* var. *mongolica*)天然林和人工林根内真菌网络复杂性与稳定性特征及其对环境因素的响应, 以呼伦贝尔沙地樟子松天然林和不同引种地(呼伦贝尔沙地、科尔沁沙地和毛乌素沙地)不同林龄(中龄林、近熟林和成熟林)人工林为研究对象, 采用分子生态网络分析法对根内真菌群落网络复杂性和稳定性进行比较分析, 为樟子松人工林科学管理提供理论依据。主要结果有: 1) 樟子松根内真菌网络均以正相关关系为主, 而天然林网络负相关关系比例更高; 人工林根内真菌网络复杂性高于天然林, 且毛乌素沙地网络最为复杂, 不同引种地人工林网络复杂性在近熟林达到最大值。2) 子囊菌门(Ascomycota)为天然林和人工林主要关键真菌类群; 在属水平上, 主要为丝盖伞属(*Inocybe*)、美口菌属(*Calostoma*)、*Cladophialophora*等。腐生菌与其他真菌联系密切, 病原菌作为关键菌群存在于人工林。3) 天然林网络稳定性更强, 科尔沁沙地人工林网络稳定性高于其他人工林; 不同引种地人工林网络稳定性均在中龄林达到最大值。4) 根内真菌网络复杂性主要受年平均温度和年平均降水量以及土壤养分含量影响, 而网络稳定性与环境因子无显著相关关系。结论: 环境因素和林龄塑造了根内真菌网络复杂性和稳定性的时空动态, 天然林根内真菌网络更稳定可能有利于林木生长, 人工林通过更复杂的网络满足养分需求; 腐生营养型真菌与其他真菌联系密切, 病原菌作为关键菌群可能对人工林生长和健康有消极影响。

关键词: 樟子松; 根内真菌; 分子生态网络; 林龄

Complexity and stability of molecular ecological network of root-associated fungi associated with *Pinus sylvestris* var. *mongolica*

LI Qiyang¹, ZHAO Peishan¹, GAO Guanglei^{1,2,3,4,5,*}, DING Guodong^{1,3,4,5}, ZHANG Ying^{1,3,4,5}, LIU Minghui¹

¹ School of Soil and Water Conservation, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

² State Key Laboratory of Efficient Production of Forest Resources, Beijing 100083, China

³ Yanchi Ecology Research Station of the Mu Us Desert, Yanchi 751500, China

⁴ Engineering Research Center of Forestry Ecological Engineering, Ministry of Education, Beijing 100083, China

⁵ Key Laboratory of State Forestry and Grassland Administration on Soil and Water Conservation, Beijing 100083, China

Abstract: Root-associated fungi exert ecological functions to affect the growth of host plants through complex interactions, but the complexity and stability of networks and the influencing factors remain unclear. To illuminate the complexity and stability of molecular network of root-associated fungi (RaF) associated *Pinus sylvestris* var. *mongolica* and investigate the environmental driving factors, we select natural forests and plantations (half-mature, nearly mature and mature forest) in

基金项目: 国家自然科学基金项目(32371962)

收稿日期: 2023-08-28; 网络出版日期: 2024-06-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: gaoguanglei@bjfu.edu.cn

the Hulunbuir Desert, Horqin Desert, and Mu Us Desert to determine RaF network by using molecular ecological network analysis. The results indicate that 1) The interactions of RaF are dominated by positive correlation and there is stronger competition among fungi in natural forest; The complexity of RaF network in plantations is higher than natural forest, and RaF network in the Mu Us Desert is the most complicated; With the stand aging, the complexity reaches the maximum in nearly mature plantation. 2) Ascomycota is the main key fungi flora. The main genera are *Inocybe*, *Calostoma*, *Cladophialophora* and so on. Saprophytic closely contact with others in plantation and natural forest, but pathotrophic fungi appear as keystone in plantation forest. 3) Compared with plantations, RaF network of natural forests has higher stability, and the stability of RaF network of Horqin Desert is higher than others. In different deserts, the stability reaches the maximum in the half-mature plantation. 4) Complexity of RaF network is significantly correlated with mean annual temperature, mean annual precipitation and soil nutrient, but there is no significantly correlation between stability of network and environmental factors. In conclusion, the environment and stand ageing shape the variation of RaF network complexity and stability. The stronger stability in natural forests is beneficial to forest growth. Plantations meet the growth demand through more complicated network. Saprophytic closely contact with others, but pathotrophic fungi may have negative effect on the growth and health of plantations.

Key Words: *Pinus sylvestris* var. *mongolica*; root-associated Fungi; molecular ecological network; stand age

根内真菌(Root-associated Fungi, RaF)是定殖于植物根系的重要土壤微生物类群,与寄主植物生长和健康状态存在密切关系。近年来,现代生物技术蓬勃发展,国内外学者系统研究了根内真菌的群落组成和功能群特征,深入阐释了根内真菌在生态系统物质循环和宿主植物生长发育等方面的重要作用^[1-2],对于深入理解根内真菌维持和调控生态系统功能具有重要意义。但国内外研究普遍证实,土壤微生物并不是相互独立的,而是存在复杂的相互关系,进而调控实现各种复杂的生态功能^[3]。因此,微生物互作关系的复杂性和稳定性成为相关研究的前沿和热点问题^[4-5]。

分子生态网络分析可以通过网络结构特征解析不同土壤微生物类群间的相互作用,是表征土壤微生物共生模式的常用方法^[6]。一般来说,网络连通性越强,复杂程度越高,而复杂性增强能够促进土壤微生物对生态系统的积极作用^[7]。同时,土壤微生物网络的复杂性与稳定性密切相关,土壤微生物常通过维持网络的相对稳定来抵抗环境因素的干扰,以竞争为代表的负相关关系往往能够通过负反馈促进网络的稳定^[8]。因此,分子生态网络分析可以有效揭示土壤微生物相互关系的复杂性与稳定性,并映射生态系统的复杂性和稳定性^[9]。此外,土壤微生物的相互作用并不是一成不变的,而是具有较强的时空变异性 and 环境敏感性,气候、海拔、植物等因素对于土壤微生物的相互作用都具有重要影响^[10-11],进而导致分子生态网络复杂性和稳定性的差异。

樟子松(*Pinus sylvestris* var. *mongolica*)耐寒、耐旱、耐贫瘠,被广泛引种栽植于我国北方风沙区,是区域生态环境建设的重要树种^[12]。同时,樟子松也是一种典型的菌根依赖型树种,根内真菌对其生长和健康存在重要影响^[13]。但目前,不同引种地樟子松根内真菌生态网络的复杂性与稳定性如何?又受到哪些环境因素的影响?这些问题仍然尚不明确,极大限制了我们对于不同引种地樟子松与其内真菌群落关系的系统认知。鉴于此,以呼伦贝尔樟子松天然林和呼伦贝尔沙地、科尔沁沙地和毛乌素沙地樟子松人工林为研究对象,系统研究樟子松根内真菌群落分子生态网络,比较分析网络复杂性和稳定性时空差异,揭示网络复杂性和稳定性影响因素,以期深入理解樟子松根内真菌相互关系,并为樟子松人工林经营管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

樟子松天然林样地位于内蒙古红花尔基国家森林公园(48°44'N, 120°01'E),人工林样地分别位于内蒙古

海拉尔国家森林公园(49°12'N,119°36'—39'E)、辽宁章古台沙地国家森林公园(N42°42',E122°29')和陕西榆林红石峡沙地植物园(N39°19',E109°42')。内蒙古红花尔基和海拉尔国家森林公园地处呼伦贝尔沙区,属中温带半干旱大陆性季风气候区,土壤类型主要为黑钙土、栗钙土和风沙土等,灌草植物主要为羊草(*Leymus chinensis*)、沙蓬(*Agriophyllum squarrosum*)、小叶锦鸡儿(*Caragana microphylla*)等。辽宁章古台沙地国家森林公园地处科尔沁沙地,属中温带亚湿润大陆性季风气候,土壤类型主要为风沙土,灌草植物主要为胡枝子(*Lespedeza bicolor*)、小叶锦鸡儿和羊草等。陕西榆林红石峡沙地植物园地处毛乌素沙地,属暖温带半干旱大陆性季风气候区,土壤类型主要为风沙土,灌草植物主要为油蒿(*Artemisia ordosica*)、花棒(*Hedysarum scoparium*)、蒺藜(*Tribulus terrestris*)等。

表 1 樟子松林地概况
Table 1 Basic information of the *Pinus sylvestris* var. *mongolica* forests

样地 Plots	年平均气温 Mean annual temperature/℃	年平均日照时数 Mean annual sunshine duration/h	年平均降水量 Mean annual precipitation/ mm	树龄 Age group/a	平均树高 Average height/m	平均胸径 Average DBH/cm
NF	228.53	0.86	302.51	—	9.3	21.2
HB HBh	227.19	—0.78	348.4	24	5.57	13.41
HBn				35	8.42	21.98
HBm				44	11.1	27.58
HQ HQh	210.92	8.19	511.31	23	5.25	12.42
HQn				36	9.62	15.71
HQm				45	11.3	23.01
MU MUh	232.34	9.47	540.74	23	9.91	14.15
MUn				33	13.05	18.63
MUm				44	14.65	21.98

NF: 天然林 Natural forests; HB: 呼伦贝尔沙地人工林 Plantations in the Hulunbuir Desert; HQ: 科尔沁沙地人工林 Plantations in the Horqin Desert; MU: 毛乌素沙地人工林 Plantations in the Mu Us Desert; h: 中龄林 Half-mature forest; n: 近熟林 Nearly mature forest; m: 成熟林 Mature forest; DBH: 胸径 Diameter at breast height

1.2 样地设置与样品采集

2019 年 7 月,结合历史资料和实地勘测,选择樟子松天然林和立地条件、管理措施相同的人工林开展根尖和土壤样品采集工作,共设置 10 个样地。其中,天然林样地 1 个,人工林中龄林(23—24 a)、近熟林(33—36 a)和成熟林(44—45 a)样地各 3 个。在天然林和不同林龄人工林林分中分别设置 5 个 20 m×20 m 样方作为试验样地,并在样方中选取 3 棵间距大于 10 m 的标准木进行样品采集。将林木基部周围的地表覆盖物清理后,小心采集根尖样品并剔除其他杂物,并混合同一样方 3 棵标准木根尖样品,共得到 50 个根尖样品,采样完成后立即将样品置于-4℃便携式保温箱保存,带回后存放于-80℃冰箱备用。同时,采集对应的土壤样品,用于后续土壤理化性质分析。

1.3 根内真菌分子鉴定和功能群划分

细根样品带回实验室后立即保存于-80℃冰箱,用蒸馏水小心地冲掉细根样品上的沙土和杂物,并将其剪成 10 cm 左右的小段,置于培养皿中进一步清洗干净。使用 PowerSoil® DNA Kit (MoBio Laboratories, Carlsbad, CA) 试剂盒对根内真菌 DNA 抽提,之后对 rDNA ITS 区进行 PCR 扩增,真菌通用引物为 ITS1F(5'-CTTGGTCATAGACGAAGTAA-3')和 ITS2(5'-GCTGCGTTCTTCAGATGC-3')。对 PCR 扩增产物进行凝胶电泳检测,利用 Illumina MiSeq 制备测序文库。剔除低质量序列后,以 97%为阈值对有效序列划分 OTU,为统一数据量对样本进行抽平,序列数保留为 18191。抽平并剔除非真菌 OTU 后,共获得可划分 OTU 数量 1643 个。基于 FUNGuild 平台划分真菌功能群,对置信度为“很可能”(probable)和“极可能”(highly probable)的划分结果进行保留。本论文真菌高通量测序原始序列已上传存储至 NCBI 数据库,项目编号为 PRJNA814484。

1.4 气象数据来源与土壤理化性质测定

研究区气象数据(2009—2018)由中国气象科学数据中心(<http://data.cma.cn>)获得,并计算得到年平均

日照时数 (MSd)、年平均气温 (MT) 和年平均降水量 (MP) (表 1)。研究区土壤含水量 (SWC) 采用环刀烘干称重法测定, 土壤 pH 值 (pH) 采用 pH 分析仪 (上海雷磁, 中国) 测定, 土壤有机碳 (SOC) 含量采用重铬酸钾稀释热法测定, 全氮 (TN) 含量采用靛酚蓝比色法测定, 全磷 (TP) 含量采用钼锑抗比色法测定, 有效氮 (AN) 采用碱解扩散法测定, 有效磷 (AP) 采用碳酸氢钠法测定。

1.5 数据分析

为了增强数据准确性和代表性, 选用相对丰度总和大于 0.01% 的 OTU 进行樟子松天然林和人工林根内真菌网络构建。使用 ‘igraph’ 数据包计算相关性系数矩阵和 P 值矩阵, 通过斯皮尔曼相关性检验 (Spearman's rank correlation) 计算 OTU 间互作关系, 选取 $|r| > 0.7, P < 0.05$ 为物种存在相关关系的阈值, 对 P 值进行校正后构建网络并计算网络拓扑属性, 利用 Gephi 0.9.2 实现网络可视化。网络拓扑性质包括节点数、节点间连线、连通度、平均路径长度、聚集系数、模块性等指数。通过计算模块内的连通度 (Z_i) 与模块间的连通度 (P_i) 得出网络节点的拓扑角色, 将模块枢纽 ($Z_i > 2.5, P_i < 0.62$)、网络枢纽 ($Z_i > 2.5, P_i > 0.62$) 以及连接器 ($Z_i < 2.5, P_i > 0.62$) 归为关键节点, 其他节点为外围节点 ($Z_i < 2.5, P_i < 0.62$)^[14]; 基于 OTU 相对丰度, 根据网络各节点显著正、负相关性通过零模型计算网络正、负内聚力, 负内聚力与正内聚力比值作为衡量网络稳定性指标^[15]。采用 Spearman 相关系数分析网络特性与环境因子之间的相关性。以上分析均基于 R 4.2.2 完成。采用 SPSS 对网络稳定性进行单因素方差 (one-way ANOVA) 分析。

2 结果与分析

2.1 樟子松林土壤理化性质

整体上看, 相较于樟子松人工林, 天然林土壤养分情况更好, 但含水量较低; 人工林中毛乌素沙地养分条件相对较差。随着林龄增加, 呼伦贝尔和毛乌素人工林土壤养分含量呈上升趋势, 而科尔沁人工林养分含量先减小后增加 (表 2)。

表 2 樟子松林地土壤理化性质

Table 2 Soil properties of the *Pinus sylvestris* var. *mongolica* forests

样地 Plots	土壤含水量 SWC%	pH	有机碳 SOC/(g/kg)	全氮 TN/(g/kg)	全磷 TP/(g/kg)	有效氮 AN/(mg/kg)	有效磷 AP/(mg/kg)
NF	4.49±0.31d	6.68±0.30bcd	10.70±0.58a	0.95±0.12a	0.22±0.02b	24.47±1.53c	3.31±0.44a
HBh	5.58±0.39c	7.50±0.45a	6.86±0.39d	0.59±0.08c	0.16±0.01bc	38.35±1.38b	0.69±0.32de
HBn	5.47±0.44c	7.36±0.45ab	7.83±0.70c	0.64±0.07c	0.16±0.01bc	40.68±1.84b	1.43±0.53b
HBm	7.87±0.28a	7.09±0.25abc	9.75±0.53b	0.95±0.08b	0.21±0.01bc	55.72±1.27a	1.90±0.35b
HQh	5.44±0.25c	6.53±0.40cd	6.86±0.33d	0.58±0.07c	0.21±0.02bc	34.14±1.66bc	1.35±0.14b
HQn	6.66±0.56b	6.69±0.32bcd	5.24±0.33e	0.42±0.05d	0.16±0.01c	28.66±1.64bc	0.89±0.45cd
HQm	8.08±0.40a	6.30±0.43d	7.05±0.49d	0.56±0.03c	0.18±0.01bc	40.67±1.84b	0.82±0.36cd
MUh	5.67±0.54c	7.21±0.33abc	2.90±0.22f	0.17±0.03f	0.51±0.04a	10.89±1.43d	0.46±0.36e
MUn	5.68±0.45c	7.35±0.42ab	3.56±0.30f	0.17±0.02f	0.51±0.02a	13.57±1.20d	0.48±0.26e
MUm	6.49±0.52b	7.42±0.37ab	4.81±0.33e	0.30±0.05e	0.48±0.07a	25.38±1.11c	1.07±0.62c

SWC: 土壤含水量 Soil water content; SOC: 有机碳 Total organic carbon; TN: 全氮 Total nitrogen; TP: 全磷 Total phosphorus; AN: 有效氮 Available nitrogen; AP: 有效磷 Available phosphorus; 数值为平均值±标准差; 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

2.2 根内真菌分子生态网络特征

樟子松天然林和人工林根内真菌网络呈高度模块化 (图 1)。根内真菌网络以正相关关系为主, 天然林网络的负相关比例大于人工林网络。相比于人工林, 天然林网络节点和边更少, 具有较小的平均连通度和平均路径长度, 表明天然林网络简单但紧密; 毛乌素沙地人工林网络节点、边较高, 更为复杂。在不同引种地人工林, 随着林龄增加, 根内真菌网络边数和平均连通度均呈现先增大后减小的趋势, 在近熟林达到最大值, 表明人工林根内真菌网络复杂性随林龄增加先增大后减小, 近熟林网络最为复杂, 成熟林网络最为简单, 同时近熟林网络平均路径较大, 表明该时期网络结构较松散 (表 3)。

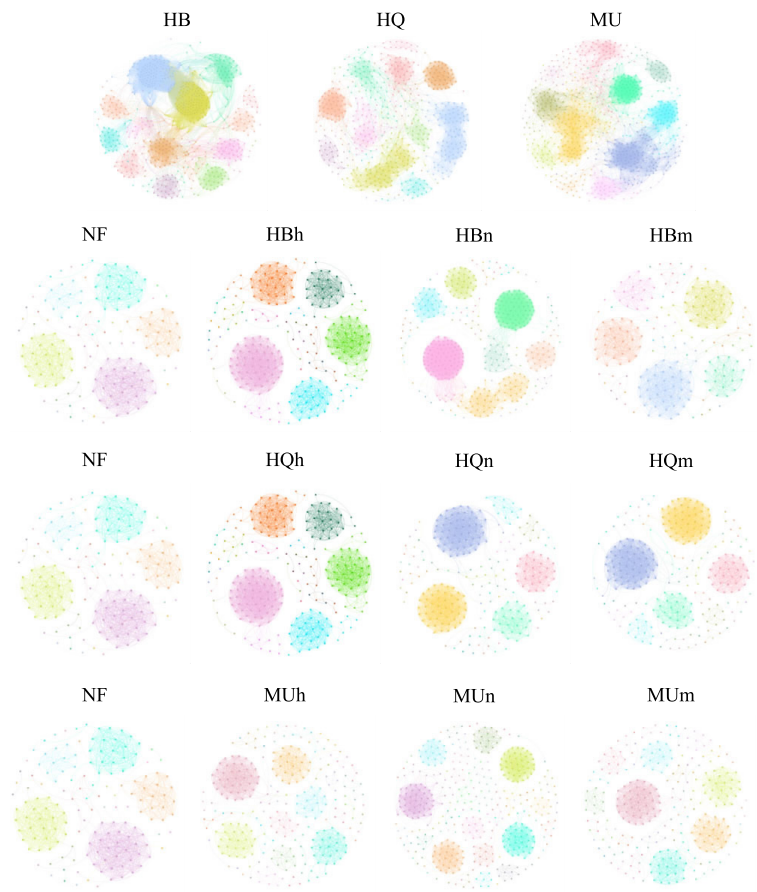


图1 樟子松根内真菌分子生态网络

Fig.1 Molecular ecological networks of RaF associated with *Pinus sylvestris* var. *mongolia*

NF:天然林,HB:呼伦贝尔沙地人工林,HQ:科尔沁沙地人工林,MU:毛乌素沙地人工林;h:中龄林,n:近熟林,m:成熟林;该图为不同引种地和相同引种地不同林龄樟子松根内真菌的互作网络图,节点颜色表示不同模块

表3 樟子松根内真菌分子生态网络拓扑学特征

Table 3 Molecular ecological network topological parameters of RaF associated with *Pinus sylvestris* var. *mongolia*

	样地 Plots	节点 Node	连线 Link	负相关比例/% Negative	平均连通度 Average degree	平均路径长度 Average path distance	聚类系数 Clustering coefficient	模块性 (模块数) Modularity (n)
HB	NF	208	1215	1.728	11.683	1.256	0.976	0.746 (71)
	HB	636	18496	0	58.164	4.110	0.852	0.584 (13)
	HBh	283	2949	1.051	20.841	1.683	0.969	0.695 (56)
	HBn	456	9187	0.054	40.294	4.937	0.968	0.621 (58)
	HBm	226	1878	0	16.619	1.704	0.946	0.753 (46)
HQ	HQ	584	7869	0.013	26.949	4.484	0.814	0.784 (25)
	HQh	359	3052	0.491	17.003	1.349	0.975	0.742 (119)
	HQn	305	3369	0.297	22.092	1.464	0.979	0.684 (73)
	HQm	300	2740	0.073	18.267	1.585	0.976	0.688 (80)
MU	MU	743	12159	0	32.729	3.947	0.728	0.705 (26)
	MUh	481	3174	1.355	13.198	1.915	0.956	0.747 (148)
	MUn	492	3325	1.053	13.516	2.136	0.958	0.837 (129)
	MUm	347	1860	0.430	10.720	1.420	0.969	0.785 (117)

NF:天然林,HB:呼伦贝尔沙地人工林,HQ:科尔沁沙地人工林,MU:毛乌素沙地人工林;h:中龄林,n:近熟林,m:成熟林

2.3 根内真菌分子生态网络关键节点

樟子松天然林和人工林根内真菌网络中的节点大部分为外围节点,天然林网络有 43 个关键节点,呼伦贝尔沙地、科尔沁沙地和毛乌素沙地人工林网络关键节点数量分别为 28、34 和 70 个。在不同林龄人工林网络中,呼伦贝尔沙地网络关键节点数量分别为 55、53 和 37,科尔沁沙地网络关键节点数量分别为 58、56 和 54,毛乌素沙地网络的关键节点分别为 106、88 和 75(图 2)。

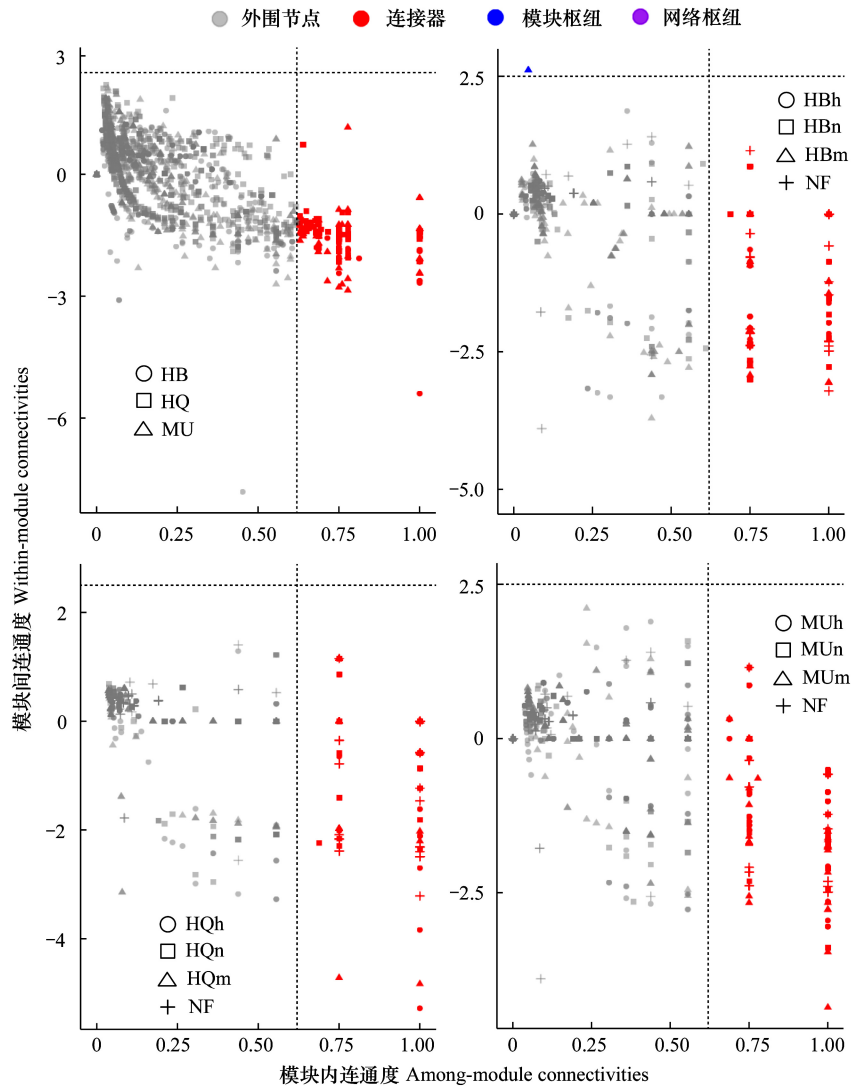


图 2 樟子松根内真菌分子生态网络关键节点

Fig.2 Molecular ecological network keystone OTUs of RaF associated with *Pinus sylvestris* var. *mongolica*

该图为不同引种地和相同引种地不同林龄樟子松根内真菌网络的关键节点。形状代表不同样地和不同林龄,颜色代表不同拓扑角色

在门水平上,根内真菌网络关键节点中子囊菌门(Ascomycota)占比最高,并且子囊菌门在天然林网络中的占比大于人工林;不同林龄人工林网络中,中龄林和近熟林的子囊菌门占比均高于成熟林(图 3)。在属水平上,出现次数最多的为丝盖伞属、美口菌属和 *Cladophialophora*,其余还包括棉草菌属(*Tomentella*)、被孢霉属(*Mortierella*)、根孢囊霉属(*Rhizophagus*)、青霉属(*Penicillium*)、粒毛盘菌属(*Lachnum*)、地孔菌属(*Geopora*)、*Acephala* 等(图 3)。樟子松天然林、呼伦贝尔沙地近熟林、科尔沁沙地中龄林、近熟林和成熟林以及毛乌素沙地近熟林网络关键节点的主要功能群均为腐生和病理-腐生-共生营养型,呼伦贝尔沙地中龄林、毛乌素沙地中龄林和成熟林网络关键节点的主要功能群为共生和腐生营养型,而共生和病理-腐生-共生营养型是呼伦贝

尔沙地成熟林网络关键节点的主要功能群。腐生营养型真菌为根内真菌网络主要关键菌群;同时,病理营养型真菌作为关键菌群未出现在天然林网络,但在不同林龄人工林网络中均有出现(图 3)。

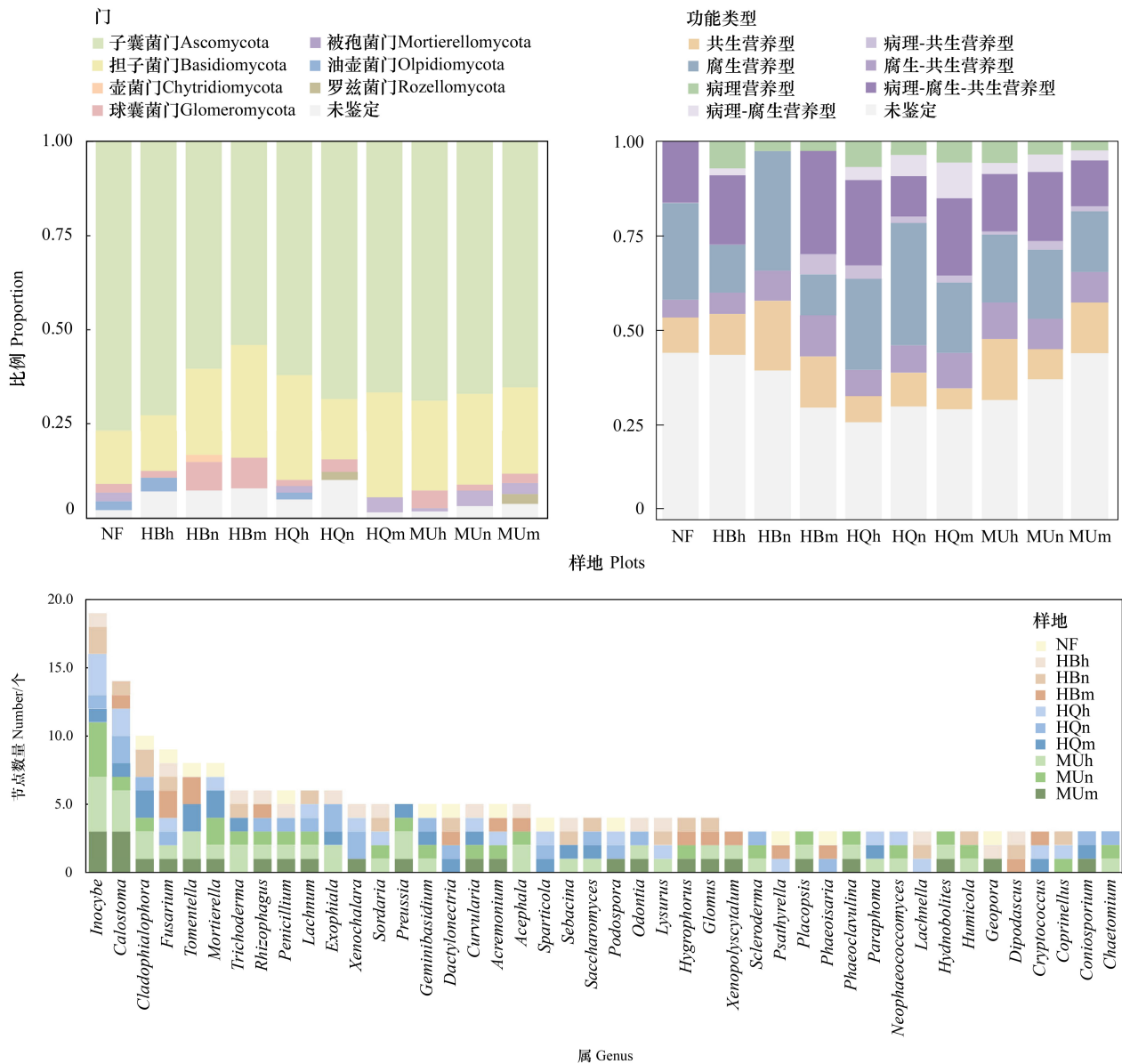


图3 樟子松根内真菌分子生态网络关键节点分布情况

Fig.3 Distribution of network molecular ecological network keystone OTUs of RaF associated with *Pinus sylvestris* var. *mongolica*

该图为樟子松根内真菌网络关键节点门水平组成、功能群组成和属水平组成(仅列出在3个及以上样地的出现的属);NF:天然林,HB:呼伦贝尔沙地人工林,HQ:科尔沁沙地人工林,MU:毛乌素沙地人工林;h:中龄林,n:近熟林,m:成熟林;Inocybe:丝盖伞属;Calostoma:美口菌属;Cladophialophora:Cladophialophora;Fusarium:镰刀菌属;Penicillium:青霉属;Tomentella:棉革菌属;Mortierella:被孢霉属;Trichoderma:木霉属;Rhizophagus:根孢囊霉属;Lachnum:粒毛盘菌属;Exophiala:外瓶霉属;Xenochalara: Xenochalara;Sordaria: Sordaria;Preussia: 光黑壳属;Geminibasidium: 双子担子菌属;Dactylonectria: Dactylonectria;Curvularia: 弯孢属;Acephala: Acephala;Sparticola: Sparticola;Sebacina: 蜡壳耳属;Saccharomyces: 酒精酵母属;Podospora: Podospora;Odontia: Odontia;Lysurus: 散尾鬼笔属;Hygrophorus: 蜡伞属;Glomus: Glomus;Xenopolyscytalum: Xenopolyscytalum;Scleroderma: Scleroderma;硬皮马勃属;Psathyrella: 脆柄菇属;Placopsis: Placopsis;Phaeoisaria: Phaeoisaria;Phaeoclavulina: Phaeoclavulina;Paraphoma: Paraphoma;Neophaeococcomyces: Neophaeococcomyces;Lachnella: Lachnella;Humicola: 腐质霉属;Geopora: 地孔菌属;Cryptococcus: 隐球酵母属;Coprinellus: 小鬼伞属;Coniosporium: Coniosporium;Chaetomium: 毛壳属

2.4 根内真菌分子生态网络稳定性

不同引种地樟子松人工林网络内聚力比值存在显著差异性 ($P < 0.05$), 其中稳定性最好的是科尔沁沙地网络 (图 4); 天然林根内真菌网络内聚力比值小于科尔沁沙地中龄林和近熟林, 但高于其他人工林网络内聚力, 具有较好的稳定性 (图 4)。同一引种地不同林龄网络内聚力比值表现出显著差异 ($P < 0.05$), 并且三个引种地人工林网络内聚力比值在中龄林达到最大值, 表现出更强的稳定性。呼伦贝尔沙地三个林龄人工林网络内聚力比值显著低于天然林, 科尔沁沙地成熟林网络稳定性显著低于天然林, 毛乌素沙地近熟林和成熟林网络稳定性显著低于天然林 (图 4)。

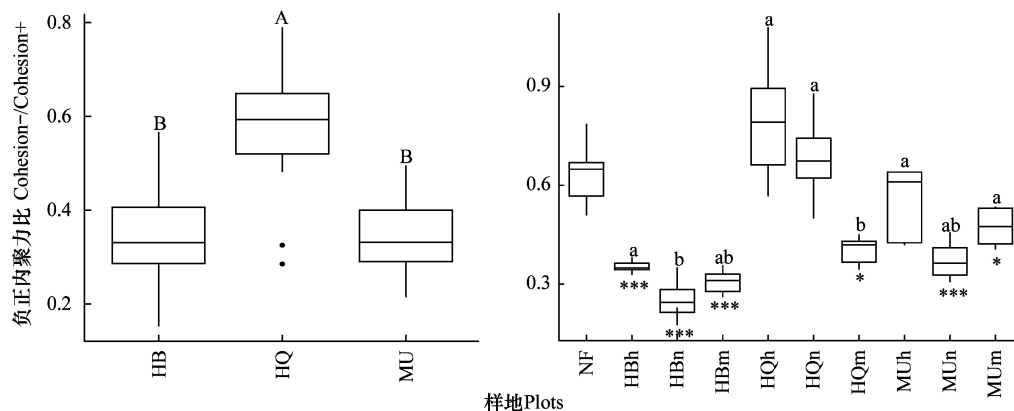


图 4 樟子松根内真菌分子生态网络稳定性特征

Fig.4 Stability of molecular ecological network of RaF associated with *Pinus sylvestris* var. *mongolica*

不同大写字母表示不同引种地根内真菌网络稳定性存在显著差异 ($P < 0.05$), 不同小写字母表示相同引种地不同林龄根内真菌网络稳定性存在显著差异 ($P < 0.05$); * 表示人工林和天然林网络稳定性在 $P < 0.05$ 水平上存在显著差异, ** 表示在 $P < 0.01$ 水平上存在显著差异, *** 表示在 $P < 0.001$ 水平上存在显著差异

2.5 环境因子对根内真菌分子生态网络特征与稳定性的影响

樟子松根内真菌网络主要受到土壤养分含量和年平均降水量的影响, 而土壤含水量和 pH 值的影响较小。节点数与土壤有机质和全氮含量呈显著负相关 ($P < 0.05$), 与年平均降水量呈显著正相关 ($P < 0.05$), 网络连通度与土壤全磷含量和年平均气温呈显著负相关 ($P < 0.05$), 网络稳定性与环境因子无显著相关关系 (图 5)。

3 讨论

3.1 樟子松根内真菌分子生态网络特征

樟子松根内真菌间更倾向于共生关系。樟子松天然林和人工林根内真菌具有高度模块化的互作网络, 微生物网络中相关关系可描述为正相关和负相关, 正相关代表共生关系或处于相似生态位, 负相关代表存在竞争关系或独特环境生态位^[16]。天然林和人工林根内真菌网络正相关关系占比更高, 说明根内真菌间可能偏向于协作共生, 推测原因是宿主效应和环境过滤作用聚集了生态位相似的真菌, 减少了竞争^[17]。根内真菌能够通过这些共生关系促进养分积累, 增强宿主植物抗胁迫能力^[18]。此外, 天然林网络的负相关比例大于人工林网络, 表明天然林根内真菌间的竞争更强。

关键节点通常具有重要的生态功能, 在真菌群落中发挥关键作用^[19]。从门水平看, 樟子松根内真菌关键菌群中子囊菌门占比最高, 这与其他外生菌根依赖型树种相似^[20], 且其占比随林龄呈现动态变化, 说明子囊菌门在樟子松根内真菌群落占有重要地位。可能是因为樟子松林土壤营养物质贫乏, 中龄林和近熟林生长发育旺盛, 养分需求大, 而子囊菌门大多为腐生真菌, 可促进养分循环和利用^[21]; 同时子囊菌门进化速度快且物

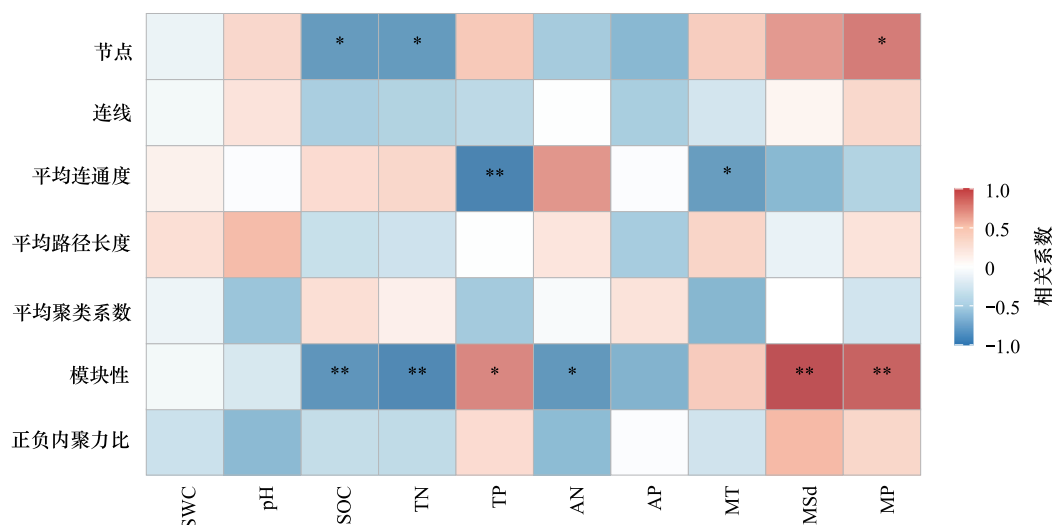


图5 樟子松根内真菌分子生态网络特征与环境因子之间的相关性

Fig.5 Correlation between molecular ecological network topological parameters of RaF associated with *Pinus sylvestris* var. *mongolia* and soil properties and climate factors

* 表示相关性显著, $P < 0.05$, ** 表示相关性极显著, $P < 0.01$. SWC, 土壤含水量; SOC, 土壤有机碳含量; TN, 全氮含量; TP, 全磷含量; AN, 有效氮含量; AP, 有效磷含量; MT, 年平均气温; MSd, 年平均日照时数; MP, 年平均降水量

种多样性高, 对于干旱地区环境适应能力强^[22]。关键节点功能群分析结果也表明腐生营养型真菌与其他真菌存在更为密切的联系从而发挥其生态功能, 有利于网络稳定性, 但在不同地区和不同林龄人工林中均有病原菌作为关键菌群出现, 这可能会对人工林生长发育带来负面影响^[23]。在属水平上, 外生菌根真菌是关键节点重要的组成部分, 对菌根依赖树种生长发育有积极影响, 如丝盖伞属、美口菌属、棉革菌属、*Acephala*、地孔菌属等。其中, 丝盖伞属和美口菌属几乎出现在所有样地且数量较多, 是松科植物常见的外生菌根真菌, 在促进养分吸收和减缓环境胁迫方面具有重要作用^[24-25]。同时也有大量腐生真菌, 它们通过分解有机质以提高养分可利用性, 如 *Cladophialophora*、被孢霉属、青霉属、粒毛盘菌属等。其中, *Cladophialophora* 能够定植于植物根系抑制土传病害传播并改善植物健康状况^[26]。青霉属真菌有利于促进纤维素分解, 被孢霉属真菌具有溶磷功能, 且都对病原菌有一定的抑制作用^[27-28]。

3.2 樟子松根内真菌分子生态网络复杂性和稳定性

樟子松根内真菌网络复杂性具有地理分布特征与真菌群落结构和气候条件密切相关。相比于人工林, 天然林根内真菌网络具有更低的节点、边数和平均连通度, 结构更为简单, 不同引种地人工林中, 毛乌素沙地网络更复杂。推测原因一是真菌多样性是网络组装的重要驱动因素, 群落成员存在与否影响了网络的构建^[29]。先前研究表明樟子松天然林根内真菌多样性小于人工林, 而毛乌素沙地人工林根内真菌多样性相对更高^[30], 较高的物种多样性可能会增强真菌间的相互作用。二是不同地区水热条件存在差异, 真菌群落通过构建不同的网络结构及互作模式以适应生存环境。温度是土壤真菌生存的重要限制条件, 较高的温度会减弱真菌间的相互作用从而简化网络结构^[31], 降水在提供水分的同时也有利于植物生长从而促进根系分泌, 为根内真菌提供良好的水分和养分环境, 促进种间互作^[32]。因此毛乌素沙地较高的年平均降水量有利于增强网络规模, 但较高的年平均温度限制了真菌活动, 导致平均连通度较低。

林龄同样也是影响根内真菌网络的重要因素, 不同引种地网络复杂性随林龄增加均先增大后减小, 近熟林网络最复杂, 成熟林网络最简单。首先樟子松在生长过程中根系生长状况、根系分泌物组成以及枯落物数量不断改变而引起微环境变化, 从而塑造真菌群落并影响其活动^[33]。同时, 真菌群落能够根据各不同生长阶段樟子松的需求而做出响应。网络复杂程度越高, 表明真菌间互作关系越强, 物质流动和信息传递效率更高,

有利于养分的有效利用,从而更好地发挥生态功能^[34-35]。樟子松在中龄林和近熟林生长旺盛需要通过根内真菌加强相互作用来提供大量养分,并且近熟林积累了一定的有机质^[36],可能会招募更多根内真菌进行分解以提高养分有效性。此外,网络复杂性也受到土壤养分的影响,当土壤养分含量升高后根内真菌网络复杂性降低,可能是因为此时宿主植物可以直接从土壤中获取养分,而降低了对根内真菌的需求^[37],植物通过减少对根系的营养分配影响根内真菌富集,从而改变网络构建^[38-39]。

根内真菌网络稳定性与宿主植物联系紧密。樟子松天然林根内真菌网络稳定性高于人工林,在人工林中科尔沁沙地网络稳定性更强,网络稳定性可能与微生物群落生态位有关^[40],天然林林龄多样且林下植被复杂^[41],真菌群落能够共享更宽的生态位,以互补的资源利用方式产生更大的稳定性,但人工林植被类型单一,植被—真菌关系简单^[42]。同时,天然林根内真菌间负相关关系比例相对较高,竞争关系有利于促进网络稳定性^[43]。稳定性在不同引种地随着人工林成熟表现出不同趋势,不同林龄间存在显著差异,但网络稳定性均在中龄林达到最大,近熟林和成熟林网络稳定性降低并显著低于天然林,可能是随林龄增长环境过滤聚集了生态位相似真菌,导致真菌具有相同环境敏感性和生存能力,削弱群落稳定性。网络稳定性与植物健康状况密切相关,稳定的网络有利于真菌发挥生态功能,表现出更强的抗干扰能力^[44],并且有研究表明网络稳定性提升能够减缓病原真菌与其他真菌的关联从而削弱其生态影响^[45]。所以天然林长势良好可能是由于其较高的根内真菌网络稳定性,而人工林成熟后网络稳定性降低并与天然林差异显著可能是其衰退的原因。在本研究中,环境因子和根内真菌网络稳定性没有显著的相关关系,这可能是因为樟子松根系与真菌间保持着相对稳定的相互作用^[46],经过强烈的环境过滤后,环境改变对根内真菌群落的影响变化较小^[47]。

4 结论

(1) 樟子松人工林和天然林根内真菌网络均以正相关关系为主,根内真菌偏向于以合作关系共存;天然林负相关关系比例更高,存在相对较强的竞争。关键节点包括丝盖伞属、美口菌属、*Cladophialophora* 等。腐生菌与其他真菌联系密切,但病原菌作为关键菌群只存在于人工林网络。

(2) 樟子松根内真菌网络复杂性和稳定性存在明显的时空动态特征。天然林根内真菌网络稳定性更强,具有较低的复杂性;人工林中,毛乌素沙地网络复杂性较高,科尔沁沙地网络稳定性较高。在不同引种地人工林均表现为近熟林网络更复杂,中龄林网络更稳定。

(3) 樟子松根内真菌网络复杂性主要受年平均气温和年平均降水量以及土壤养分含量的影响,而环境因素对根内真菌网络稳定性没有显著影响。

参考文献 (References):

- [1] Bever D J, Platt G T, Morton R E. Microbial population and community dynamics on plant roots and their feedbacks on plant communities. *Annual Review of Microbiology*, 2012, 66: 265-283.
- [2] Bai B, Liu W, Qiu X, Zhang J, Zhang J Y, Bai Y. The root microbiome: community assembly and its contributions to plant fitness. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, 64 (02): 230-243.
- [3] Fuhrman J A. Microbial community structure and its functional implications. *Nature*, 2009, 459: 193-199.
- [4] Wu M H, Chen S Y, Chen J W, Xue K, Chen S L, Wang X M, Chen T, Kang S C, Rui J P, Thies J E, Bardgett D R, Wang Y F. Reduced microbial stability in the active layer is associated with carbon loss under alpine permafrost degradation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(25): e2025321118.
- [5] Yuan M T, Guo X, Wu L W, Zhang Y, Xiao N J, Ning D L, Shi Z, Zhou X S, Wu L Y, Yang Y F, M. J T, Zhou J Z. Climate warming enhances microbial network complexity and stability. *Nature Climate Change*, 2021, 11: 343-348.
- [6] Layeghifard M, Hwang M D, Guttman S D. Disentangling interactions in the microbiome: a network perspective. *Trends in Microbiology*, 2017, 25 (3): 217-228.
- [7] Jiao S, Lu Y H, Wei G H. Soil multitrophic network complexity enhances the link between biodiversity and multifunctionality in agricultural systems. *Global Change Biology*, 2021, 28(1): 140-153.

- [8] Toshinori O, Nathaniel J H. Network structural properties mediate the stability of mutualistic communities. *Ecology Letters*, 2008, 11 (3) : 208-216.
- [9] Landi P, Minoarivelo O H, Brännström Å, Hui C, Dieckmann U. Complexity and stability of ecological networks: a review of the theory. *Population Ecology*, 2018, 60 (4) : 319-345.
- [10] Vries D T F, Griffiths R I, Bailey M, Craig H, Girlanda M, Gweon S H, Hallin S, Kaisermann A, Keith A M, Kretschmar M, Lemanceau P, Lumini E, Mason E K, Oliver A, Ostle N, Prosser I J, Thion C, Thomson B, Bardgett D R. Soil bacterial networks are less stable under drought than fungal networks. *Nature Communications*, 2018, 9: 1-12.
- [11] Chen Q L, Xiang Q, Sun A Q, Hu H W. Aridity differentially alters the stability of soil bacterial and fungal networks in coastal and inland areas of Australia. *Environmental Microbiology*, 2022, 24 (11) : 5574-5582.
- [12] Zhao P S, Gao G L, Ren Y, Ding G D, Zhang Y, Wang J Y. Intra-annual variation of root-associated fungi of *Pinus sylvestris* var. *mongolica*: The role of climate and implications for host phenology. *Applied Soil Ecology*, 2022, 176: 104480.
- [13] 李佳文, 赵珮杉, 高广磊, 任悦, 丁国栋, 张英, 郭米山, 魏晓帅. 陕西榆林沙区樟子松根内真菌群落结构和功能群特征. *菌物学报*, 2020, 39 (10) : 1854-1865.
- [14] Deng Y, Jiang Y H, Yang Y F, He Z L, Luo F, Zhou J Z. Molecular ecological network analyses. *BMC bioinformatics*, 2012, 13: 113.
- [15] Hernandez D J, David A S, Menges E S, Searcy C A, Afkhami M E. Environmental stress destabilizes microbial networks. *The ISME Journal*, 2021, 15: 1722-1734.
- [16] David B, Stefanie W. Deciphering microbial interactions and detecting keystone species with co-occurrence networks. *Frontiers in Microbiology*, 2014, 5: 219.
- [17] Xiong C, Zhu Y G, Wang J T, Brajesh S, Han L L, Shen J P, Li P P, Wang G B, Wu C F, Ge A H, Zhang L M, He J H. Host selection shapes crop microbiome assembly and network complexity. *The New phytologist*, 2020, 229 (2) : 1091-1104.
- [18] Liu Z, Li J, Hou R X, Zhang Y T, Gong H R, Sun Y F, Ouyang Z, Sun Z G. Plant Rhizospheres Harbour Specific Fungal Groups and Form a Stable Co-Occurrence Pattern in the Saline-Alkali Soil. *Agronomy*, 2023, 13 (4) : 1091-1104.
- [19] Shen C C, Wang J, Jing Z W, Qiao N H, Xiong C, Ge Y. Plant diversity enhances soil fungal network stability indirectly through the increase of soil carbon and fungal keystone taxa richness. *Science of the total environment*, 2022, 818: 151737.
- [20] 李前, 李忠武, 聂小东, 刘窑军, 童迪, 肖林辉, 申志高, 石林. 水土流失防治措施对马尾松林土壤微生物群落分子生态网络的影响. *土壤学报*, 2022, 59 (03) : 819-832.
- [21] 王海英, 郭守玉, 黄满荣, Thorsten H L, 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, 765-772.
- [22] Shen Z Z, Ruan Y Z, Chao X, Zhang J, Li R, Shen Q R. Rhizosphere microbial community manipulated by 2 years of consecutive biofertilizer application associated with banana *Fusarium* wilt disease suppression. *Biology and Fertility of Soils*, 2015, 51 (5) : 553-562.
- [23] Zhang H J, Dong L Z, Yao X D, Wang W. Soil fertility shifts the relative importance of saprotrophic and mycorrhizal fungi for maintaining ecosystem stability. *Global change biology*, 2021, 29 (4) : 1206-1216.
- [24] Zhao P S, Gao G L, Ding G D, Zhang Y, Ren Y. Fungal complexity and stability across afforestation areas in changing desert environments. *Science of the total environment*, 2024, 912: 169398.
- [25] Hayward J, Horton T R, Nuñez M A. Ectomycorrhizal fungal communities coinventing with Pinaceae host plants in *Argentina*: Gringos bajo el bosque. *The New Phytologist*, 2015, 208 (2) : 497-506.
- [26] Tarquin N, Jan B, Franz B, Joachim F, Jane O, Karin P, Falk H, J E K, Bahram M. Pervasive associations between dark septate endophytic fungi with tree root and soil microbiomes across Europe. *Nature Communications*, 2024, 15: 159.
- [27] Marfettán A J, Vélez M L, Comerio R, Gallo A, Romero S. Rhizospheric *Penicillium* and *Talaromyces* strains in *Austrocedrus chilensis* native forests: identification and evaluation of biocontrol candidates against the pathogen *Phytophthora austrocedri*. *Journal of Plant Protection Research*, 2023, 63 (2) : 239-253.
- [28] Zhang H S, Wu X H, Li G, Qin P. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing fungus (*Mortierella* sp.) and their effects on *Kosteletzkya virginica* growth and enzyme activities of rhizosphere and bulk soils at different salinities. *Biology and Fertility of Soils*, 2011, 47 (5) : 543-554.
- [29] Li J B, Li C N, Kou Y P, Yao M J, He Z L, Li X Z. Distinct mechanisms shape soil bacterial and fungal co-occurrence networks in a mountain ecosystem. *FEMS Microbiology Ecology*, 2020, 96 (4) : fiae030.
- [30] 赵珮杉, 郭米山, 高广磊, 丁国栋, 张英, 任悦. 半干旱-亚湿润干旱沙区樟子松根内真菌群落结构和功能时空动态特征. *环境科学*, 2023, 44 (1) : 502-511.
- [31] Yang D L, Kato H, Kazutaka K, Yutaka O, Toyohiro A, Yuji N, Michio K. Reconstruction of a Soil Microbial Network Induced by Stress

- Temperature. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(5): e0274822.
- [32] Hu Y L, Hasbagan G, Hu G Z, Wang X X, Wan Z Q, Gao Q Z. Seasonal patterns of soil microbial community response to warming and increased precipitation in a semiarid steppe. *Applied Soil Ecology*, 2023, 182.
- [33] 张胜男, 闫德仁, 黄海广, 胡小龙, 高海燕. 不同林龄沙地樟子松人工林土壤微生物群落结构. *中南林业科技大学学报*, 2023, 43(1): 123-131, 143.
- [34] Wang S, Wang X, Han X, Deng Y. Higher precipitation strengthens the microbial interactions in semi - arid grassland soils. *Global Ecology and Biogeography*, 2018, 27 (5): 570-580.
- [35] 张君红, 王健宇, 孟泽昕, 何佳, 董政宏, 刘凯茜, 陈文青. 土壤微生物多样性通过共现网络复杂性表征高寒草甸生态系统多功能性. *生态学报*, 2022, 42(7): 2542-2558.
- [36] 刘一麟, 任悦, 高广磊, 丁国栋, 张英, 柳叶. 樟子松林根际与非根际土壤碳氮磷化学计量特征. *应用生态学报*, 2024, 35(03): 615-621.
- [37] Larisa C, Florin P, Victoria P, Ioana V, Anca P, Vlad S, Roxana V. Long-Term Fertilization Alters Mycorrhizal Colonization Strategy in the Roots of *Agrostis capillaris*. *Agriculture*, 2022, 12(6): 847.
- [38] Marupakula S, Mahmood S, Clemmensen E K, Jacobson S, Hogbom L, Finlay D R. Root associated fungi respond more strongly than rhizosphere soil fungi to N fertilization in a boreal forest. *Science of the Total Environment*, 2020, 766: 142597.
- [39] Hermans C, Hammond P J, White J P, Verbruggen N. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends in Plant Science*, 2006, 11(12): 610-617.
- [40] Yachi S, Loreau M. Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: the insurance hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96(4): 1463-1468.
- [41] Guo Q F, Ren H. Productivity as related to diversity and age in planted versus natural forests. *Global Ecology and Biogeography*, 2014, 23(12): 1461-1471.
- [42] Koide R T, Fernandez C, Petprakob K. General principles in the community ecology of ectomycorrhizal fungi. *Annals of Forest Science*, 2011, 68 (1): 45-55.
- [43] Coyte Z K, Schluter J, Foster R K. The ecology of the microbiome: networks, competition, and stability. *Science*, 2015, 350(6261): 663-666.
- [44] Jeong M, Bazie S T, Ji M K, Hyung S K, Su K K, Goon J K, Ryung D J, Jo Y, Jung Y, Jun Y P, Sueng M K, Kyeongmo L, Ho J S. The death of Korean fir (*Abies koreana*) affects soil symbiotic fungal microbiome: Preliminary findings. *Frontiers in Forests and Global Change*, 2023, 5: 1114390.
- [45] 雷进田, 刘俊杰, 刘株秀, 梁爱珍, 胡晓婧, 于镇华, 金剑, 刘晓冰, 王光华. 保护性耕作增强了真菌群落生态网络稳定性. *微生物学报*, 2023, 63(7): 2835-2847.
- [46] 陈智裕, 马静, 赖华燕, 马祥庆, 吴鹏飞. 植物根系对根际微环境扰动机制研究进展. *生态学杂志*, 2017, 36(2): 524-529.
- [47] Beck S, Powell J R, Drigo B, Cairney J W G, Anderson C I. The role of stochasticity differs in the assembly of soil- and root-associated fungal communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 80: 18-25.