

DOI: 10.20103/j.stxb.202309041912

杨慧琴, 向涌旗, 吕倩, 尹必然, 汤智韧, 张妍, 陈刚, 赖家明, 范川, 李贤伟. 3 种混交林造林初期土壤真菌群落结构特征. 生态学报, 2024, 44(8): 3360-3371.

Yang H Q, Xiang Y Q, Lü Q, Yin B R, Tang Z R, Zhang Y, Chen G, Lai J M, Fan C, Li X W. A comparative study on the soil fungal community structure across three mixed forests at the initial stage of afforestation. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(8): 3360-3371.

3 种混交林造林初期土壤真菌群落结构特征

杨慧琴¹, 向涌旗¹, 吕倩¹, 尹必然¹, 汤智韧¹, 张妍¹, 陈刚¹, 赖家明¹, 范川^{1,2}, 李贤伟^{1,2,*}

¹ 四川农业大学林学院, 成都 611130

² 长江上游森林资源保育与生态安全国家林业与草原局重点实验室 & 长江上游林业生态工程四川省重点实验室, 成都 611130

摘要: 土壤微生物是参与陆地生态系统生物地球化学循环过程的重要成员。造林可以显著影响土壤微生物群落结构与功能, 但造林初期驱动的土壤理化因子变化对土壤微生物结构与功能的影响尚不清楚。通过分析由珍稀乡土树种组成的三种新造混交林(BB: 银杏 *Ginkgo biloba*-桢楠 *Phoebe zhennan*; CB: 香椿 *Toona sinensis*-红豆杉 *Taxus wallichiana*-桢楠 *Phoebe zhennan*; MB: 鹅掌楸 *Liriodendron chinense*-乐昌含笑 *Michelia chapensis*-香椿 *Toona sinensis*-玉兰 *Yulania denudata*) 表层(0—20 cm)土壤真菌群落组成、功能类群及其土壤理化因子, 并以草灌化未造林地作对照(CK), 研究土壤真菌群落结构和功能对不同林型造林初期的响应。结果表明: (1) 不同林型土壤真菌群落丰富度、多样性指数高于 CK, 表现为 MB>BB>CB>CK, 主要受到土壤孔隙度、水解性氮的影响。(2) 土壤真菌门水平优势类群在不同处理间无显著差异, 其中子囊菌门占绝对优势, MB 中的被孢霉门相对丰度显著高于 CK ($P<0.05$)。与 CK 相比, 球囊菌门与 *Leptodiscella* 相对丰度在各林型中均降低。(3) 通过非度量多维尺度(NMDS)与置换多元方差(Adonis)分析表明, 造林初期, 造林土壤真菌群落结构与 CK 存在显著差异 ($P<0.01$)。冗余分析(RDA)分析表明全钾、水解性氮、土壤容重及土壤碳氮比是影响真菌群落指示种的主要土壤理化因子; 被孢霉门与水解性氮、碳氮比、全氮、非毛管孔隙度、含水率均呈正相关, 与全钾呈负相关。(4) 真菌群落主要以腐生营养型为主, 病理营养型次之; 造林后腐生营养型真菌相对丰度降低, 而土壤腐生菌的相对丰度在 BB 与 MB 处理中反而显著增加 ($P<0.05$); MB 处理中动物病原菌的相对丰度显著增加 ($P<0.05$); 真菌优势功能类群主要受到土壤 pH、土壤孔隙度、土壤碳氮比(C/N)、土壤有机质、全氮、全钾的影响。造林初期土壤真菌群落结构与功能类群发生了显著改变, 阔叶混交林较针阔混交林变化更加明显, 其中多种阔叶树混交林病原菌相对更高。

关键词: 土壤真菌群落; 功能类群; 土壤理化性质; 造林初期; 混交林

A comparative study on the soil fungal community structure across three mixed forests at the initial stage of afforestation

YANG Huiqin¹, XIANG Yongqi¹, LÜ Qian¹, YIN Biran¹, TANG Zhiren¹, ZHANG Yan¹, CHEN Gang¹, LAI Jiaming¹, FAN Chuan^{1,2}, LI Xianwei^{1,2,*}

¹ College of Forestry, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

² National Forestry and Grassland Administration Key Laboratory of Forest Resources Conservation and Ecological Safety on the Upper Reaches of the Yangtze River & Forestry Ecological Engineering in the Upper Reaches of the Yangtze River Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu 611130, China

Abstract: Soil microorganisms play an important role in biogeochemical cycles of terrestrial ecosystems. Afforestation significantly affected the structure and function of soil microbial community. However, the effects of variation of soil physical

基金项目: 世界银行贷款长江流域上游森林生态系统恢复项目(2019-510000-02-01-400761); 德国政府贷款四川林业可持续经营项目(G1403083)

收稿日期: 2023-09-04; 网络出版日期: 2024-01-29

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lxw@sicau.edu.cn

and chemical properties driven by afforestation in the initial stage on the structure and function of soil microorganisms remain unknown. In this study, we analyzed the soil fungal community composition and functional groups and soil physical and chemical properties of the surface layer (0—20 cm) in three newly mixed forests composed of precious native tree species (BB: *Ginkgo biloba* and *Phoebe zhennan*; CB: *Toona sinensis* and *Taxus wallichiana* and *Phoebe zhennan*; MB: *Liriodendron chinense* and *Michelia chapensis* and *Yulania denudata* and *Toona sinensis*), and compared them with an unforested land (CK), to explore the response of soil fungal community structure and function to the initial afforestation of three forest types. The results showed as follows: The richness and diversity index of soil fungal community in different forest types were higher than CK, showing MB>BB>CB>CK, which was mainly affected by soil porosity and available nitrogen (AN). There was no significant difference in the dominant groups of soil fungal community at phylum level among different treatments. Ascomycetes are predominant fungal group, and the relative abundance of Mortierellomycota in MB was significantly higher than that in CK ($P<0.05$). The relative abundance of Glomeromycota and *Leptodiscella* were lower in all forest types compared with CK. The results of NMDS and Adonis analysis showed that there were significant differences in soil fungal community structure between afforestation and CK ($P<0.01$). RDA analysis showed that the factors such as total potassium (TK), AN, soil bulk density (SBD) and carbon-to-nitrogen ratio (C/N) were the main factors affecting fungal community indicator species. Mortierellomycota were mainly positively correlated with AN, C/N, total nitrogen (TN), non-capillary porosity (NCP), soil water content (SWC), and mainly negatively correlation with TK. Saprotroph group was identified as the most dominate trophic group, followed by pathotroph. After afforestation, the relative abundance of Saprotroph decreased, while the relative abundance of soil saprotroph increased significantly in BB and MB ($P<0.05$). The relative abundance of animal pathogen significantly increased in MB ($P<0.05$). The dominant functional groups of fungi were mainly affected by soil pH, soil porosity, C/N, soil organic matter (SOM), TN and TK. The community structure and functional groups of soil fungi changed significantly in the early stage of afforestation, and the variation of broad-leaved mixed forest was more obvious than that of coniferous and broad-leaved mixed forest, and the pathogen was higher in a mixed broad-leaved forest consisted of more species than other forest type.

Key Words: soil fungal community; function group; soil physicochemical properties; initial stage of afforestation; mixed forest

土壤真菌是森林生态系统的重要参与者,在有机物的循环利用与营养物质的跨水平输送中发挥重要作用^[1]。土壤真菌群落与地上植物存在密切的相互作用^[2],地上植物可通过凋落物和根际分泌物调控土壤微生物群落的结构和组成^[3-4]。土壤真菌对环境变化十分敏感^[5],其群落结构的变化可先于动植物群落的变化,从而提供土壤改善的早期迹象或土壤恶化的早期预警。近年来,随着高通量测序技术的广泛运用,土壤真菌群落结构作为评价土壤健康的重要指标,其功能类群更能有效地响应外界环境变化^[5]。真菌不同的功能类群与植物营养吸收、有机质分解以及介导植物病害等方面均密切相关^[6-7],如菌根真菌可以与植物根系形成菌根促进植物的营养吸收^[8];腐生真菌是土壤有机质的重要分解者^[9];病原真菌通过感染植物某些组织从而破坏整个森林生态系统^[1]。造林初期是优良林分形成的关键时期,深入研究土壤真菌群落结构与功能特征在造林初期的变化,可对造林初期林分生长状况进行科学分析。

森林生态系统中的土壤真菌群落变化主要受到植被类型^[10]或森林经营干扰^[11]的影响,其中造林可以显著改变土壤真菌群落结构^[12]。不同的经营措施通过引起土壤理化性质的改变进而驱动土壤真菌群落结构与功能的变化,土壤真菌群落的轻微变化又反过来推动养分循环的局部变化并对林分生长产生影响^[13]。针对不同林分类型中土壤真菌群落的研究发现,土壤容重、土壤孔隙度、全氮、全磷、有机碳等指标是影响真菌群落结构的关键因子^[8,14-15]。刘立玲等研究发现,相比针叶纯林,针阔混交林能通过增加土壤有机碳、全氮而显著提高真菌群落多样性^[16]。在树木生长的早期阶段,土壤微生物群落结构和物种丰度会受到植物特征及土壤因子的影响,其中土壤特性是微生物群落变异的主要解释变量^[17],与其他微生物类群相比,土壤真菌群落结构与树种具有更强的相关性^[18]。不同土地利用类型的地上凋落物和地下根系质量和数量的差异以及土壤性质的变化均会对土壤真菌群落结构产生影响^[19]。

植树造林是土地覆盖变化的一个关键因素,造林初期是构建健康优良林分的关键时期。在造林初期,林下土壤温湿度、养分有效性和异质性等土壤因子发生变化,高度敏感的土壤微生物可根据环境变化而迅速做出响应。因此,为了揭示造林在初期阶段是通过驱动哪些土壤理化因子的变化而引起土壤真菌群落结构及其功能类群的变化,以及不同林型的土壤真菌群落和功能类群对土壤因子改变的响应有何差异,本研究选取川西天全县由珍稀乡土树种组成的针阔混交林与阔阔混交林,并以未造林地作对照,采用高通量测序技术,分析不同混交林与未造林地土壤真菌群落多样性、群落结构及功能类群的差异,并进一步研究土壤真菌群落与土壤理化因子之间的相关性,以期对新造混交林的健康状况进行科学分析,促进乡土珍稀树种的保护与发展,为精准提升森林质量、培育优良林分提供理论依据与科学参考,巩固和提升长江上游生态屏障建设成效。

1 研究地区与研究方法

1.1 研究区概况

研究区位于四川省雅安市天全县城厢镇改匠坪(30°5′15″—30°5′29″N;102°45′36″—102°45′40″E),地处四川盆地西部边缘中低山区,二郎山东麓,邛崃山脉南段,地势西北高,东南低,海拔 930—1103 m,是我国长江中上游重要的天然生态屏障。该区域属亚热带季风气候,温暖多雨,全年降水量达 1576.1 mm,1 月份平均气温 5℃,8 月份平均气温 23.7℃,年平均气温 15.3℃,年均日照数 928.6 h,无霜期为 241 d。造林区为紫色土,较为疏松,植物多样性较差,主要有香薷(*Elsholtzia ciliata*)、水芹(*Oenanthe javanica*)、野棉花(*Anemone vitifolia*)、艾(*Artemisia argyi*)、狼尾草(*Pennisetum alopecuroides*)等,并于 2020 年冬季以品字形混交方式营建了针阔混交林、阔阔混交林。

1.2 试验设计

2022 年 12 月选择成活率达 95%以上新造林地进行样地布设,选取由不同珍稀乡土树种组成的 3 种林分类型(BB:6 银杏 4 桢楠;CB:5 香椿 3 红豆杉 2 桢楠;MB:3 鹅掌楸 3 乐昌含笑 2 香椿 2 玉兰),并以未造林地作对照(CK),本试验 3 种林分类型与对照分别设置了 3 个重复样地(15 m×20 m),共设置 12 个样地,样地周边均设置 5 m 保护带,不同林分类型样地之间距离大于 10 m。

2022 年 12 月进行土壤样品采集,去除地表凋落物,按照 5 点取样法用直径为 5 cm 的螺旋土钻取林分内 0—20 cm 深度土壤,将每块样地内采集的土壤混合均匀后过 2 mm 筛网,根据四分法选取 1.50 kg 土样装入已编号自封袋,带回实验室用于土壤化学指标的测定;取少量土壤装入已编号无菌管,立即用干冰保存,带回实验室贮藏于-80℃冰箱,用于土壤真菌群落分子测定。采用环刀法采集土样,用于土壤容重、孔隙度等指标测定。3 种林分类型及 CK 的立地条件与林分基本概况见表 1。

表 1 林分基本概况

Table 1 Conditions of forest stand

处理 Treatments	树种 Tree species	平均树高 Mean tree height/m	平均胸径 Mean DBH/cm	林分密度/ Stand density/ (stem/hm ²)	海拔 Altitude/m	坡向 Slope direction	坡度 Gradient/(°)
双阔混交林 BB	银杏	4.84±0.53	5.26±0.98	1200	938	东南	18
	桢楠	4.78±0.38	5.40±0.76				
针阔混交林 CB	香椿	3.81±0.35	5.33±0.63	1230	985	东南	35
	红豆杉	3.79±0.53	4.68±0.77				
	桢楠	4.94±0.48	6.10±0.69				
多阔混交林 MB	香椿	4.00±0.24	5.12±0.67	1230	993	东南	28
	鹅掌楸	3.74±0.40	5.51±0.97				
	玉兰	4.09±0.43	5.25±0.54				
	乐昌含笑	3.80±0.52	4.92±0.86				
未造林地 CK	—	—	—	—	943	东南	18

表中数据为平均值±标准差(mean±SD);BB:双阔混交林 Broad-broad mixed forest;CB:针阔混交林 Coniferous and broad-leaf mixed forest;MB:多阔混交林 Multiple broad-leaf forest;CK:未造林地 Unforested land

1.3 土壤理化指标测定

土壤含水量(SWC)测定使用烘干法,土壤容重(SBD)与土壤孔隙度(毛管孔隙度 CP;非毛管孔隙度 NCP)的测定均使用环刀法,土壤 pH 采用电位法测定,土壤全氮(TN)采用半微量凯氏定氮法测定,全钾(TK)采用碱熔-火焰光度法测定,全磷(TP)采用碱溶-钼锑抗比色法测定,土壤水解氮(AN)采用碱解-扩散法测定,有效磷(AP)采用碳酸氢钠法,速效钾(AK)采用醋酸铵-火焰光度计法测定,有机质(SOM)采用重铬酸钾氧化-外加热法测定^[20]。

1.4 土壤真菌 DNA 提取及基因测定

使用 E.Z.N.A.[®] 土壤 DNA 提取试剂盒(Omega Bio-tek, Norcross, 佐治亚州,美国)进行土壤微生物群落总基因组 DNA 提取,使用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 的质量,使用 NanoDrop2000(美国 Thermo Scientific 公司)测定 DNA 浓度及纯度。真菌内部专录间隔区(ITS)采用引物 ITS3F-GCATCGATGAAGAACC CAGC 和 ITS4R-TCCTC

CGCTTATTGATATGC 进行聚合酶链式反应(PCR)扩增。每个样本设 3 个重复,将同一样本的 PCR 产物混合后使用 2%琼脂糖凝胶回收 PCR 产物;利用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒(Axygen Biosciences, Union City, 加利福尼亚州,美国)进行产物回收和纯化,2%琼脂糖凝胶电泳检测;用 Quantus[™] Fluorometer (Promega,美国)对回收产物进行检测定量,使用 NEXTFLEX[®] Rapid DNA-Seq Kit 对纯化后的 PCR 产物进行建库,利用 Illumina 公司的 Miseq PE300/NovaSeq PE250 平台进行测序。

1.5 真菌功能类群分类

真菌的营养类型与功能类群分类利用 FUNGuild 进行划分,并保留置信度“极可能”和“很可能”两个等级。

1.6 数据分析

采用 Mothur 软件对 α 多样性指数 Ace、Chao、Coverage、Simpson、Shannon、Sobs 进行计算,并使用 SPSS 23.0 软件对土壤理化因子、 α 多样性指数进行单因素方差分析(One-way ANOVA)。通过 R-3.3.1 中通过 vegan 软件包(version2.4.3)对不同处理土壤真菌群落 β 多样性进行非度量多维尺度分析(NMDS),采用非参数多因素方差分析(Adonis)检验不同处理间土壤真菌群落 β 多样性的显著性差异。通过 Pearson 相关性分析,分析多样性指数与理化因子、土壤真菌功能类群与理化因子的关系,并通过冗余分析(RDA),分析真菌群落与理化因子间的关系,用 GraphPad(8.0.2)与 Origin 2023 软件制图。

2 结果与分析

2.1 造林初期的土壤理化性质

三种混交林表层(0—20 cm)土壤物理性质在造林初期差异显著,BB 与 MB 的土壤非毛细管孔隙度显著高于 CB($P<0.05$),CB 的土壤 pH 显著高于 BB 与 MB($P<0.05$)。三种林分与 CK 相比,BB 与 MB 土壤毛细管孔隙度与总孔隙度均显著高于 CK($P<0.05$)(表 2)。

三种混交林表层(0—20 cm)土壤化学性质在造林初期差异显著,CB 与 MB 处理中土壤有机质、全氮、全磷、有效磷的含量均显著高于 BB 处理($P<0.05$),土壤全钾与有效磷的含量均在 CB 中最高,三种林分间差异显著($P<0.05$)。与 CK 相比,三种林分土壤有机质含量、土壤碳氮比均显著提高($P<0.05$),MB 处理中水解性氮、速效钾的含量显著高于 CK($P<0.05$)(表 3)。

2.2 不同林型造林初期的土壤真菌群落结构分析

通过对各处理土壤样本进行高通量测序,共获得 746363 条优化序列,序列长度主要分布在 281—400bp,采用 USEARCH11-uParse 算法按照 97%相似性对操作性分类单元(OTU)进行聚类分析,共得到 19 门、71 纲、164 目、350 科、736 属和 4 467 OTUs。通过方差分析发现,不同林型间土壤真菌群落丰富度指数(Ace index)与群落多样性指数(Shannon index)均没有显著差异($P>0.05$),但两指数均表现为 MB 最高,其次为 BB 与

CB,CK 最低(图 1)。

表 2 不同处理的土壤物理性质
Table 2 Soil physical properties of different treatments

物理指标 Soil physical indicators	林分类型 Forest types			
	CK	BB	CB	MB
土壤含水率 SWC	0.331±0.03a	0.286±0.02a	0.306±0.08a	0.333±0.02a
土壤容重 SBD	1.166±0.11a	1.306±0.02a	1.299±0.12a	1.231±0.09a
毛管孔隙度 CP/%	32.362±0.56b	34.418±0.69a	34.773±0.79a	33.862±0.28a
非毛管空隙度 NCP/%	7.777±1.07ab	10.267±2.16a	6.453±0.06c	9.637±1.24ab
总孔隙度 T-P/%	40.138±1.56b	44.685±1.74a	41.227±0.74ab	43.916±1.54a
土壤酸碱度 pH	7.620±0.19a	7.145±0.05b	7.723±0.04a	7.370±0.03b

表中数据为平均值±标准差(mean ± SD);不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$);SWC:土壤含水率 Soil water content;SBD:土壤容重 Soil bulk density;NCP:非毛管孔隙度 Non-capillary porosity;T-P:总孔隙度 Total porosity;CP:毛管孔隙度 Capillary porosity

表 3 不同处理的土壤化学性质
Table 3 Soil chemical properties of different treatments

化学指标 Soil chemical indicators	林分类型 Forest types			
	CK	BB	CB	MB
土壤有机质 SOM/(g/kg)	31.841±3.67c	45.925±6.74b	58.172±2.81a	58.172±0.61a
全氮 TN/(g/kg)	1.627±0.33ab	1.420±0.01b	1.914±0.04a	2.015±0.06a
全钾 TK/(g/kg)	19.248±0.45a	12.623±0.73b	20.290±0.62a	11.202±0.55c
全磷 TP/(g/kg)	0.242±0.03a	0.156±0.01b	0.265±0.02a	0.232±0.01a
水解性氮 AN/(g/kg)	0.120±0.00b	0.126±0.01b	0.135±0.01ab	0.150±0.00a
速效钾 AK/(g/kg)	0.106±0.01c	0.124±0.00bc	0.153±0.01a	0.136±0.01ab
有效磷 AP/(g/kg)	0.023±0.01b	0.004±0.00c	0.043±0.00a	0.024±0.01b
碳氮比 C/N	11.491±1.03b	18.760±2.67a	17.630±0.81a	16.752±0.44a

表中数据为平均值±标准差(mean ± SD);不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$);SOM:土壤有机质 Soil organic matter;AN:全氮 Total nitrogen;TK:全钾 Total potassium;TP:全磷 Total phosphorus;AN:水解性氮 Available nitrogen;AK:速效钾 Available potassium;AP:有效磷 Available phosphorus;C/N:碳氮比 Carbon-to-nitrogen ratio

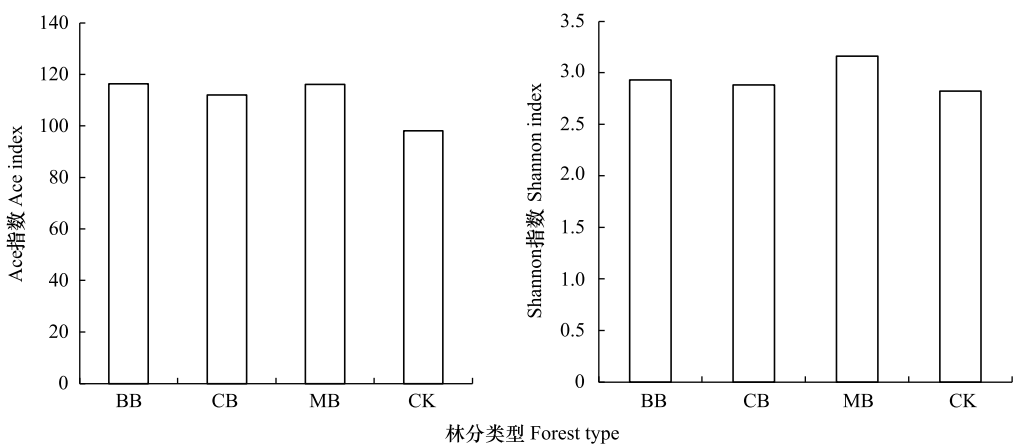


图 1 不同处理土壤真菌群落丰富度与多样性指数

Fig.1 Soil fungal richness and diversity index of different treatments

Ace 指数:真菌丰富度指数;Shannon 指数:真菌多样性指数;BB:双阔混交林;CB:针阔混交林;MB:多阔混交林

基于 Bray-Curtis 距离的 NMDS 的前两轴可较好表征各处理间土壤样品真菌群落结构的差异, BB、CB、MB 处理的土壤真菌群落在二维空间中聚集分布明显, 并与 CK 较好的分离, 说明造林对土壤真菌群落结构影响

较大 ($\text{Stress} = 0.072$) (图 2), 进一步通过 Adonis 分析表明, 在造林初期, 三种混交林之间土壤真菌群落结构存在显著差异 ($R^2 = 0.304, P < 0.05$), 造林地土壤真菌群落与未造林地之间存在显著差异 ($R^2 = 0.384, P < 0.01$) (图 2)。

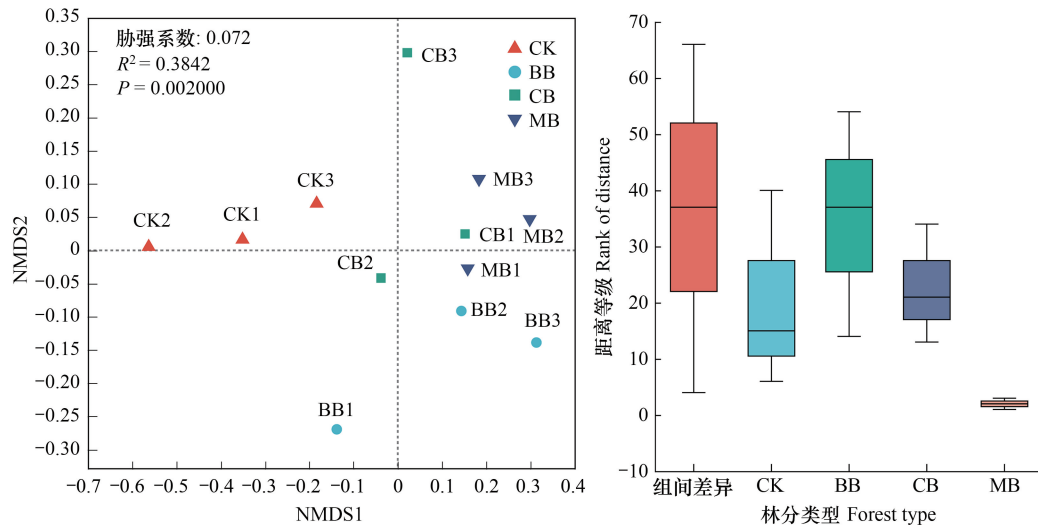


图 2 不同处理土壤真菌群落的非度量多维尺度分析 (NMDS) 与非参数多元方差分析 (Adonis)

Fig.2 Non-metric multidimensional scaling analysis (NMDS) and the nonparametric MANOVA (Adonis) of the soil fungal community of different treatments

根据不同林型真菌群落组成分布可知, 土壤真菌群落结构的主要变化差异不是来自真菌种类的变化, 而是优势物种相对丰度的变化。在门水平上, 土壤真菌优势菌门在 BB、CB、MB 及 CK 中组成基本一致, 子囊菌门 (Ascomycota)、未分类真菌门 (unclassified_k__Fungi)、担子菌门 (Basidiomycota)、罗兹菌门 (Rozellomycota)、被孢霉门 (Mortierellomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota) 等相加的相对丰度之和, 占真菌总序列的比例在 BB、CB、MB、CK 等四种处理中分别为 98.222%、98.78%、98.61%、97.38%。通过 Kruskal-Wallis 秩和检验发现, MB 的被孢霉门 (Mortierellomycota) 的相对丰度显著高于 CB 与 CK ($P < 0.01$), 三种林型的球囊菌门 (Glomeromycota) 相对丰度与 CK 相比差异不显著 (图 3)。

在纲水平上, 丰度占比前十的真菌纲占总序列的 83.78%—89.29%, 与 CK 相比, 三种林型中不同真菌类群的丰度发生了改变, 其中 MB 中散囊菌纲 (Eurotiomycetes) 与被孢霉纲 (Mortierellomycetes) 的相对丰度显著高于 CB 与 CK ($P < 0.01$), BB 中子囊菌门未分类纲 (unclassified_Ascomycota) 相对丰度显著高于 CB ($P < 0.05$) (图 3)。

在属水平上, 丰度占比前十的真菌属占总序列的 35.64%—44.28%, 阔阔混交林 (BB、MB) 中子囊菌门未分类属 (unclassified_Ascomycota) 相对丰度显著高于针阔混交林 (CB) 与 CK ($P < 0.05$); 被孢霉属 (*Mortierella*) 在阔阔混交林中的相对丰度高于针阔混交林与 CK, 其中多阔混交林与 CK 之间达到显著差异 ($P < 0.01$); 3 种混交林的 *Leptodiscella* 相对丰度均低于 CK, 其中 MB 与 CK 之间存在显著差异 ($P < 0.05$) (图 3)。

2.3 不同林型造林初期土壤真菌的功能类群

基于 FUNGuild 数据库对全部土壤样品真菌群落的营养型和功能类群进行鉴定分类, 筛选后得到 8 个营养型, 分别是腐生营养型 (Saprotroph)、病理-腐生营养型 (Pathotroph-Saprotroph)、病理营养型 (Pathotroph)、共生营养型 (Symbiotroph)、腐生-共生营养型 (Saprotroph-Symbiotroph)、致病菌-腐生-共生营养型 (Pathogen-Saprotroph-Symbiotroph)、病理-共生营养型 (Pathotroph-Symbiotroph)、腐生-病理-共生营养型 (SaProtroph-Pathotroph-Symbiotroph), 各处理主要以腐生营养型为主, 相对丰度占比 54.16%—68.31%, 其次为病理营养型 (11.63%—25.68%) (图 4)。

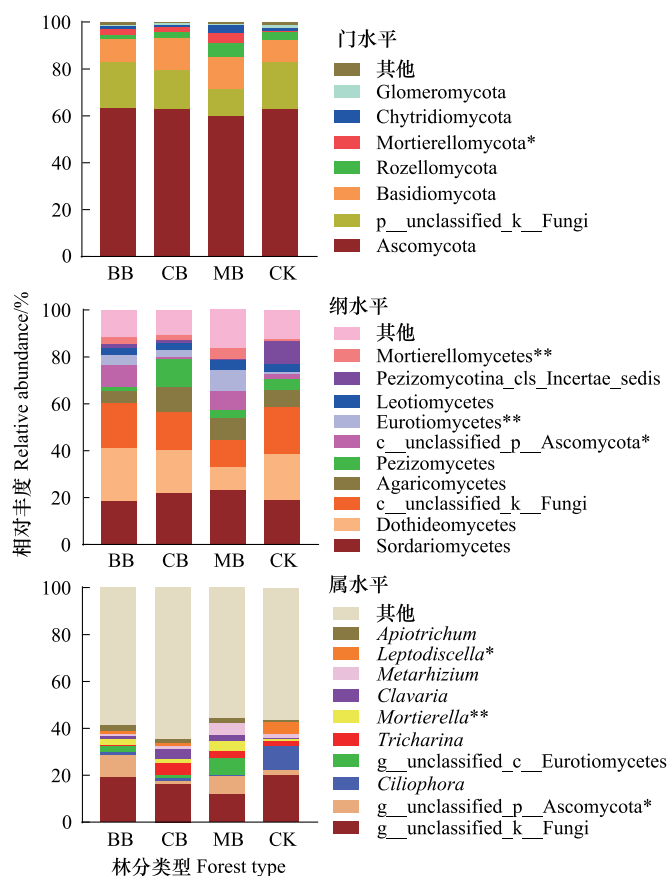


图3 不同处理土壤真菌门和纲和属水平上的相对丰度

Fig.3 Relative abundance of soil fungal communities at the phylum and class and genus level from the different treatments

门水平: Ascomycota: 子囊菌门; Basidiomycota: 担子菌门; Rozellomycota: 罗兹菌门; Mortierellomycota: 被孢霉门; Chytridiomycota: 壶菌门; Glomeromycota: 球囊菌门

纲水平: Sordariomycetes: 子囊菌纲; Dothideomycetes: 座囊菌纲; Agaricomycetes: 伞菌纲; Pezizomycetes: 盘菌纲; Eurotiomycetes: 散囊菌纲; Leotiomycetes: 锤舌菌纲; Mortierellomycetes: 被孢霉纲

属水平: Ciliophora: 纤毛虫属; Tricharina: 薄毛盘菌属; Mortierella: 被孢霉属; Clavaria: 珊瑚菌属; Metarhizium: 绿僵菌属

对丰度前十的真菌功能类群进行分类,腐生营养型真菌主要由木质腐生菌、土壤腐生菌与未定义腐生菌组成,其中土壤腐生菌相对丰度在 BB 中最高,其次为 MB 与 CB,在 CK 中最低,BB 与 CK 之间差异显著($P < 0.05$)。病理营养型真菌主要由动物病原菌与植物病原菌组成,在 3 种混交林中的真菌相对丰度均高于 CK,其中 MB 的动物病原菌相对丰度显著高于 BB、CB 与 CK($P < 0.05$)(表 4)。

2.4 土壤真菌群落与土壤理化因子的相关性分析

对土壤环境因子与真菌 α 多样性指数进行相关性分析,结果显示,土壤养分间相互影响,SOM 与 TN、AN、AK、C/N 呈显著正相关($P < 0.05$),TK、TP、AP 与 pH 呈显著正相关($P < 0.05$),与土壤非毛细管孔隙度呈显著负相关($P < 0.05$),AK、C/N 与毛细管孔隙度呈显著正相关。土壤因子与真菌群落相互作用,CP 与 Sobs、Ace、Chao 指数呈显著正相关($P < 0.05$),与 Coverage 呈显著负相关($P < 0.05$),AN、T-P 与 Simpson 指数呈显著负相关($P < 0.05$)(图 5)。

从功能型真菌与理化因子的相关性热图可知,腐生营养型中的土壤腐生菌、木质腐生菌与土壤理化因子之间存在相反相关性,其中 pH 与土壤腐生菌呈显著负相关($P < 0.05$),TK、pH 与木质腐生菌呈显著正相关($P < 0.05$),土壤 C/N 及各孔隙度与土壤腐生菌呈正相关性,与木质腐生菌呈负相关性,其中 C/N、总孔隙度表现为显著相关($P < 0.05$)。SOM、TN 与病理营养型中的植物病原菌呈显著正相关($P < 0.05$),与动物病原菌呈

不显著正相关。丛枝菌根真菌与非毛细管孔隙有较高的相关性,但不显著($P>0.05$)。复合营养型中寄生-未定义腐生菌与 SOM、AK、AP 均呈显著负相关($P<0.05$) (图 5)。

通过了方差膨胀因子分析筛选出 8 个环境因子,将其与存在显著性差异的土壤真菌进行冗余分析(RDA)可知,第一轴解释率为 67.37%,第二轴解释率为 14.66%,两轴解释率达 82.03%,具有显著差异的真菌主要受 TK (解释率 = 51.3%, $P<0.01$) 和 AN (解释率 = 24.4%, $P<0.01$) 的影响,其次为 SBD 与 C/N。散囊菌纲、被孢霉纲与 AN、C/N、TN、NCP、SWC 均呈正相关,与 TK 呈负相关, *Leptodiscella* 则相反。子囊菌门下未分类纲、属与 NCP、C/N、SBD 呈正相关,与 TK、AP 呈负相关(图 6)。

3 讨论

3.1 造林初期土壤真菌群落结构分析

3.1.1 造林初期土壤真菌群落 α 多样性分析

土壤微生物的 α 多样性可反映微生物群落的丰富度与多样性,对生态系统恢复与持续性发展至关重要。通常土壤微生物群落多样性越高、群落结构越复杂,土壤生态系统越稳定,抵抗外界干扰能力越强^[21]。本研究中,不同林型的土壤真菌群落丰富度指数与群落多样性指数均高于未造林地,其中 MB 最高(图 1)。相关性分析表明,代表真菌群落丰富度的指数(Ace、Chao、Sobs)与土壤毛细管孔隙度呈显著正相关,群落多样性指数(Simpson)与总孔隙度呈负相关(图 5)。土壤孔隙度是植物根系生长的场所,是土壤养分、水分、空气及微生物的传输通道、贮存库和活动空间,对水、肥、气、热以及微生物活性等具有重要的调控作用^[22]。土壤中的孔隙结构可以通过改变水分和气体流动速率而为微生物提供大量的异质性生境,从而影响并改变土壤微生

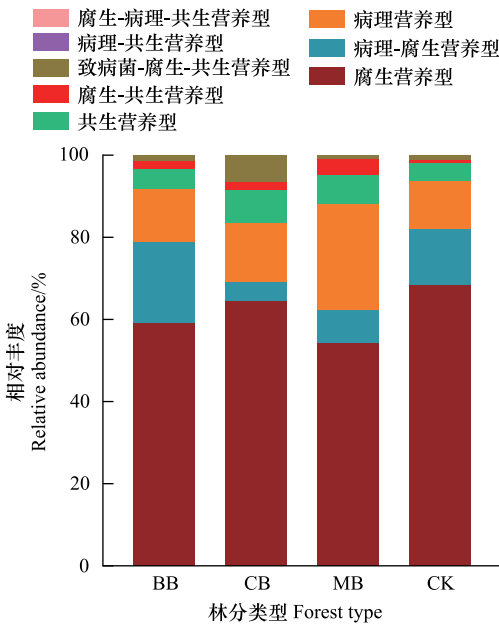


图 4 不同处理土壤真菌群落营养型相对丰度

Fig. 4 Relative abundances of trophic modes of soil fungal communities from different treatments

表 4 不同处理土壤真菌群落的功能类群相对丰度

Table 4 Relative abundances of functional groups of soil fungal communities from different treatments					
营养模式 Trophic modes	功能类群 Functional groups	BB	CB	MB	CK
腐生营养型 Saprotroph		63.30%	67.97%	61.45%	71.67%
	木质腐生菌	54.68%	61.35%	54.11%	66.99%
	土壤腐生菌 *	7.72%	4.65%	6.34%	2.21%
	未定义腐生菌	0.90%	1.97%	1.01%	2.48%
病理营养型 * Pathotroph		11.52%	12.71%	27.72%	10.69%
	植物病原菌	8.97%	9.83%	11.50%	7.38%
	动物病原菌 *	2.55%	2.88%	16.22%	3.30%
共生营养型 Symbiotroph		1.07%	1.21%	1.91%	2.82%
	丛枝菌根真菌	1.07%	1.21%	1.91%	2.82%
复合营养型 Polytroph		24.11%	18.10%	8.92%	14.82%
	动物病原-寄生-未定义腐生菌	5.84%	4.17%	5.14%	1.61%
	寄生-植物病原-植物腐生菌	14.55%	1.77%	2.48%	1.83%
	粪腐生-外生-凋落物腐生-未定义腐生菌	0.47%	11.46%	0.10%	2.95%
	寄生-未定义腐生菌	3.25%	0.70%	1.19%	8.44%

* 表示不同处理间存在差异 ($P<0.05$)

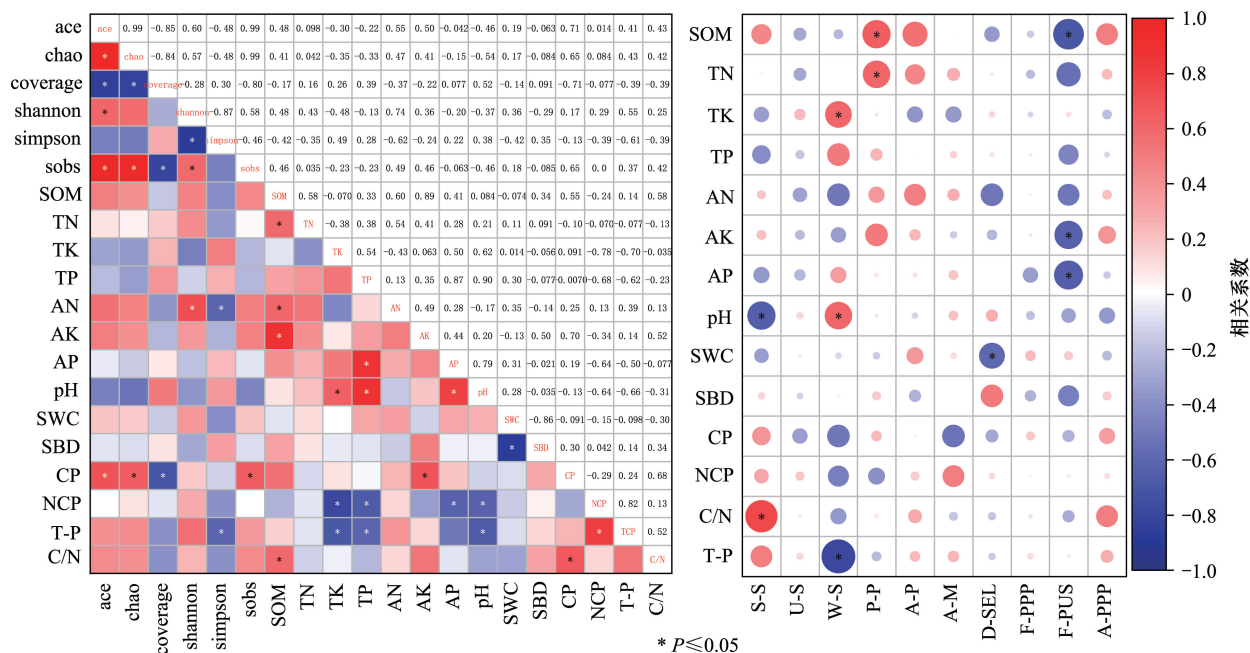


图5 土壤真菌群落多样性指数与土壤理化因子、真菌功能类群与土壤理化因子相关性分析

Fig.5 Pearson correlation analysis between the diversity index and functional groups of soil fungal communities and soil physicochemical properties

S-S: 土壤腐生菌; U-S: 未定义腐生菌; W-S: 木质腐生菌; P-P: 植物病原菌; A-P: 动物病原菌; A-M: 丛枝菌根真菌; D-SEL: 粪腐生-外生-凋落物腐生-未定义腐生菌; F-PPP: 寄生-植物病原-植物腐生菌; F-PUS: 寄生-未定义腐生菌; A-PPP: 动物病原-寄生-未定义腐生菌; 群落丰富度指数: ace, chao, sobs; 群落多样性指数: shannon, simpson; 群落覆盖度指数: coverage; SOM: 土壤有机质; TN: 全氮; TK: 全钾; TP: 全磷; AN: 水解性氮; AK: 速效钾; AP: 有效磷; pH: 土壤酸碱度; SWC: 土壤含水率; SBD: 土壤容重; CP: 毛管孔隙度; NCP: 非毛管孔隙度; T-P: 总孔隙度; C/N: 土壤碳氮比

物群落结构的多样性和稳定性^[23]。因此,增加土壤孔隙度可以增强土壤微生物活性进而刺激土壤真菌的生长繁殖,并提高其多样性指数^[24]。本研究说明从未造林地转变为有林地初期,土壤真菌群落的多样性可以通过土壤孔隙度的增加而增加。

3.1.2 造林初期土壤真菌群落组成与 β 多样性分析

土壤微生物群落不仅随时间的推移处在一个动态变化过程,而且在不同的土壤类型、植物种类之间也会存在差异^[25]。不同林型下土壤真菌所处的微环境不同,其可利用的凋落物资源的复杂程度也不同^[15],因此,真菌群落结构也存在差异。在本研究中,通过 NMDS 与 Adonis 分析发现,造林初期三种混交林间土壤真菌群落结构差异明显 ($P < 0.05$),并与未造林地之间也存在显著差异 ($P < 0.01$) (图 2)。各处理在不同分类水平上的土壤优势真菌组成成分基本相似,土壤优势门为子囊菌门、担子菌门、罗兹菌门、被孢霉门及壶菌门(图 3),这与 Sui 等研究基本一致^[26]。群落结构差异主要为优势物种的相对丰度差异,通过分析土壤真菌群落种群的相对丰度差异,发现林分 MB 中被孢霉门及其门下被孢霉纲、被孢霉属的相对丰度均显著高于未造林地(图 3),由 RDA 分析可知,被孢霉真菌主要与土壤容重、土壤非毛细管孔隙度及土壤碳氮比等指标密切相关(图 6)。被孢霉门为好气性真菌,通气性良好的土壤环境可以为其生长繁殖提供了适宜的条件^[27],并且可利用土壤中的糖类物质进行生长代谢进而增加土壤中的有机质与养分含量^[28]。球囊菌门对生态系统的功能和平衡起着重要的作用,参与土壤中有有机物的分解和循环,可与陆生植物形成丛枝菌根,促进植物根系从土壤中吸收营养物质,利于植物生长^[29]。在本研究中,各处理间球囊菌门相对丰度无显著差异,但三种混交林的球囊菌门相对丰度均低于未造林地(图 3),可能是由土壤真菌群落对土壤养分水平的响应引起的^[30],球囊菌门与植物形成丛枝菌根促进植物对土壤养分的吸收。同时,球囊菌门真菌主要与草本形成丛枝菌根,其中草本细根

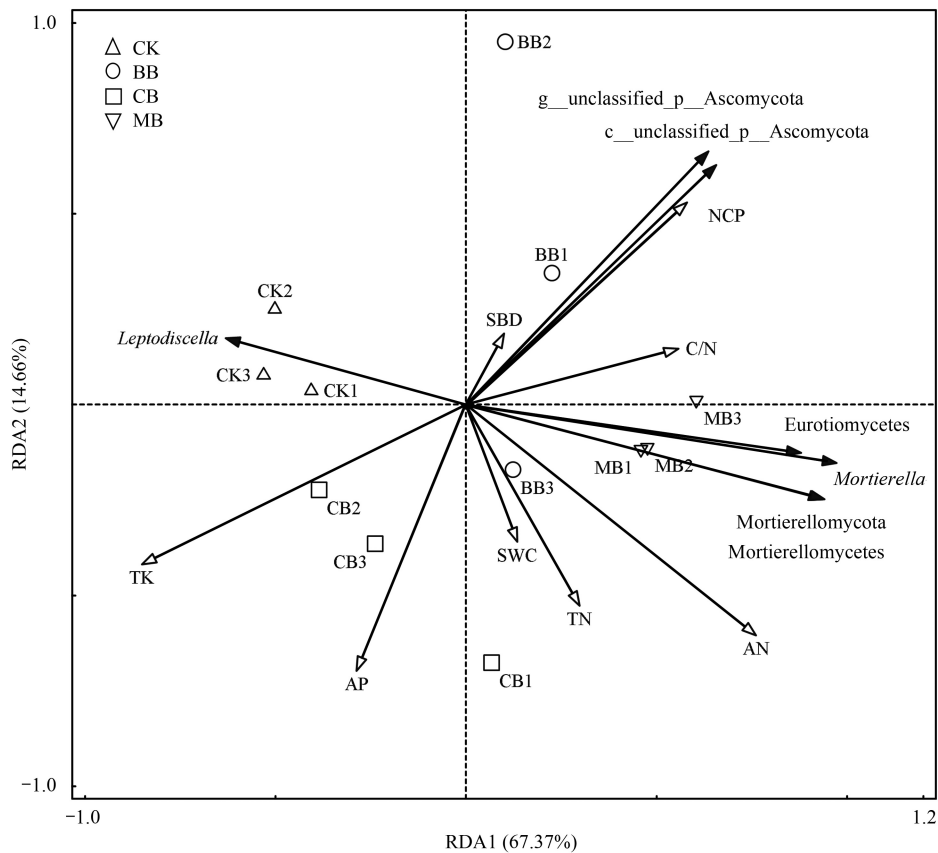


图6 土壤理化因子与显著性差异土壤真菌的冗余分析(RDA)

Fig.6 The redundant analysis between soil physicochemical properties and the significantly different soil fungi

与球囊菌门真菌形成的丛枝菌根约 80% 分布在土壤表层 15 cm 深处^[31]。

3.2 造林初期土壤真菌群落功能类群分析

真菌可以通过多种营养方式而适应生存环境的变化,腐生型真菌作为土壤中重要的分解者在养分循环方面具有重要作用^[32]。在本研究中,各处理土壤真菌优势营养型均为腐生营养型,其次为病理营养型真菌(图 4,表 4),与多数研究基本一致^[7,33]。三种混交林中腐生营养型真菌相对丰度均低于未造林地,而其中土壤腐生菌反而高于未造林地(图 5)。通过相关性分析可知,土壤腐生菌与 pH 表现为显著负相关,与土壤碳氮比呈显著正相关,与土壤孔隙度呈正相关(图 5),阔阔混交林 BB 与 MB 的 PH 均显著低于未造林地,毛细管孔隙度、总孔隙度均显著高于未造林地(表 2),因此,土壤的 pH 与孔隙度可能是影响新造混交林中土壤腐生菌的关键因子。有研究表明土壤腐生菌与较高的土壤养分水平关系最为密切^[34],本研究中未造林地较有林地土壤养分偏低(表 3),说明可能是造林通过提高土壤毛细管孔隙度比例进而提升了林地土壤养分,促进了土壤腐生菌的生长繁殖。在贫瘠的营养条件下植物群落对土壤养分的吸收同化更多依赖于菌根真菌介导^[35],这可能也是未造林地共生营养型真菌相对丰度较新造混交林偏高的原因之一。

树种多样性的增加可以显著降低病原性真菌的数量及丰富度,对森林生态系统功能产生积极影响^[36],根系真菌多样性与植物系统发育多样性和物种丰富度呈正相关,而与土壤病原菌的相对丰度可能呈负相关^[37]。针对不同林型而言,不同功能类型的树种是树种丰富度与真菌病害发病率之间表现正负相关关系的一个关键因子,树种丰富度的增加可以有效减少真菌病原体对针叶树的损害,而不会减少对阔叶树的损害^[38]。在本研究中,多种阔叶树混交的林分中土壤病理营养型真菌在造林初期显著高于针阔混交林与未造林地(图 5)。多种阔叶树混交形成荫蔽的环境,有利于形成适宜的温湿度环境而促进病原菌的生长^[38]。同时,与多数针叶树

相比,阔叶植物的叶片中多酚含量更高,这与病原体丰富度的增加密切相关^[39],随着树种丰富度的增加也增加了凋落物的异质性,为病原体提供多样化的生态位^[40]。

4 结论

造林在初期显著改变了土壤真菌群落结构,并且提高了真菌群落的多样性与丰富度,其中香椿-鹅掌楸-乐昌含笑-玉兰阔混交林与未造林地间土壤真菌的群落结构差异显著,在真菌门、纲及属等分类水平的被孢霉真菌与 CK 均存在显著差异。造林主要驱动了土壤孔隙度、土壤全钾、水解性氮、土壤碳氮比等理化指标的变化,从而引起土壤真菌群落结构的变化。在造林初期,土壤真菌由于受到栖境的选择作用而选择合适功能类群来适应不稳定的土壤环境,由此可以反映出环境生态问题,并有助于后续进一步的林分管理。本研究显示,多阔混交林病原菌相对丰度显著提高,病理型真菌对植物生长发展具有一定的危害,建议更加注重多种阔叶树混交林分生长状况,并进行适当的林分结构调整。

参考文献(References):

- [1] Adnan M, Islam W, Gang L, Chen H Y H. Advanced research tools for fungal diversity and its impact on forest ecosystem. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, 29(30): 45044-45062.
- [2] 周煜杰, 贾夏, 赵永华, 卢雅茹, 田鸽, 刘黎. 森林生态系统土壤真菌群落及其影响因素研究进展. *生态环境学报*, 2020, 29(8): 1703-1712.
- [3] Steinauer K, Chatzinotas A, Eisenhauer N. Root exudate cocktails: the link between plant diversity and soil microorganisms?. *Ecology and Evolution*, 2016, 6(20): 7387-7396.
- [4] 王亚妮, 胡宜刚, 王增如, 李以康, 张振华, 周华坤. 人工植被重建对沙化高寒草地土壤真菌群落特征的影响. *土壤学报*, 2023, 60(1): 280-291.
- [5] 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.
- [6] Frąc M, Hannula S E, Belka M, Jędrzycka M. Fungal biodiversity and their role in soil health. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 707.
- [7] 席守鸿, 明安刚, 谭玲, 何江, 覃林. 南亚热带乡土树种与桉树人工林土壤真菌群落多样性和功能类群的比较. *广西植物*, 2023: 1-15.
- [8] 孟兆云, 李敏, 杨勋爵, 吕桂芬, 牛艳芳, 张亚萍. 寒温带地区典型森林类型中外生菌根真菌多样性和群落组成及其影响因素. *生态学报*, 2023, 43(1): 38-47.
- [9] Li X L, Qu Z L, Zhang Y M, Ge Y, Sun H. Soil fungal community and potential function in different forest ecosystems. *Diversity*, 2022, 14(7): 520.
- [10] Saleem M, Hu J E, Jousset A. More than the sum of its parts: microbiome biodiversity as a driver of plant growth and soil health. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2019, 50: 145-168.
- [11] Chang E H, Tian G L, Chiu C Y. Soil microbial communities in natural and managed cloud montane forests. *Forests*, 2017, 8(2): 33.
- [12] Carson J K, Gleeson D B, Clipson N, Murphy D V. Afforestation alters community structure of soil fungi. *Fungal Biology*, 2010, 114(7): 580-584.
- [13] 张哈烁, 郑勇, 贺纪正. 土壤真菌生物地理学研究进展. *生态学杂志*, 2023, 1-13.
- [14] 黄艳, 丛日征, 张吉利, 王晓红. 三江平原典型森林类型土壤微生物群落结构与影响因子. *中南林业科技大学学报*, 2023, 43(7): 129-140.
- [15] 陈秀波, 朱德全, 赵晨晨, 张路路, 陈立新, 段文标. 不同林型红松林土壤真菌群落组成和多样性. *土壤学报*, 2019, 56(5): 1221-1234.
- [16] 刘立玲, 周光益, 党鹏, 陈洁, 尚海, 邱丽琼, 朱宁华. 湘西石漠化区3种造林模式土壤真菌群落结构差异. *生态学报*, 2022, 42(10): 4150-4159.
- [17] Pei Z Q, Eichenberg D, Bruehlheide H, Kröber W, Kühn P, Li Y, von Oheimb G, Purschke O, Scholten T, Buscot F, Gutknecht J L M. Soil and tree species traits both shape soil microbial communities during early growth of Chinese subtropical forests. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 96: 180-190.
- [18] Gao Y, Wang X W, Mao Z J, Yang L, Jiang Z Y, Chen X W, Aubrey D P. Changes in soil microbial community structure following different tree species functional traits afforestation. *Forests*, 2021, 12(8): 1018.
- [19] 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.
- [20] 张万儒, 许本彤. 森林土壤定位研究方法[M]. 北京: 中国林业出版社, 1986.
- [21] 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.
- [22] 康冰, 刘世荣, 蔡道雄, 卢立华, 何日明, 高妍夏, 迪玮峙. 南亚热带不同植被恢复模式下土壤理化性质. *应用生态学报*, 2010, 21(10): 2479-2486.
- [23] 黄龙, 包维楷, 李芳兰, 胡慧. 土壤结构和植被对土壤微生物群落的影响. *应用与环境生物学报*, 2021, 27(6): 1725-1731.
- [24] 唐恬恬, 胡宗达, 刘兴良, 蔡蕾, 王轶浩, 肖玖金, 冯秋红, 罗明霞. 川西亚高山三种天然次生林土壤微生物多样性变化特征. *生态学报*, 2023, 43(18): 7422-7434.
- [25] Lladó S, López-Mondéjar R, Baldrian P. Drivers of microbial community structure in forest soils. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(10): 4331-4338.
- [26] Sui X, Zeng X N, Li M S, Weng X H, Frey B, Yang L B, Li M H. Influence of different vegetation types on soil physicochemical parameters and fungal communities. *Microorganisms*, 2022, 10(4): 829.
- [27] 罗伶书, 王一佩, 杜盛. 模拟降雨减少对刺槐人工林土壤养分和微生物群落的影响. *生态学报*, 2023, 43(14): 5916-5925.
- [28] 林春英, 李希来, 张玉欣, 孙华方, 李成一, 金立群, 杨鑫光, 刘凯. 黄河源区高寒沼泽湿地土壤微生物群落结构对不同退化的响应. *环境科学*, 2021, 42(8): 3971-3984.
- [29] Brundrett M C. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*. 2002, 154(2): 275-304.
- [30] Xu J W, Lin G G, Liu B, Mao R. Linking leaf nutrient resorption and litter decomposition to plant mycorrhizal associations in boreal peatlands. *Plant and Soil*, 2020, 448(1): 413-424.
- [31] Waymouth V, Miller R E, Ede F, Bissett A, Aponte C. Variation in soil microbial communities: elucidating relationships with vegetation and soil properties, and testing sampling effectiveness. *Plant Ecology*, 2020, 221(9): 837-851.
- [32] 彭丽鸿, 崔朝伟, 王佳琪, 马东旭, 任正标, 何宗明, 林开敏. 连栽对杉木人工林土壤表层真菌群落结构及功能的影响. *福建农林大学学报: 自然科学版*, 2022, 51(5): 621-628.
- [33] Zhao H, Zhang F B, Wang Y, Wang J M, Li J W, Zhang Z X. Variation and drivers of soil fungal and functional groups among different forest types in warm temperate secondary forests. *Global Ecology and Conservation*, 2023, 45(45): e02523.
- [34] Wu D, Zhang M M, Peng M, Sui X H, Li W, Sun G Y. Variations in soil functional fungal community structure associated with pure and mixed plantations in Typical Temperate forests of China. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10(10): 1636.
- [35] Luo S, Schmid B, De Deyn G B, Yu, S X. Soil microbes promote complementarity effects among co-existing trees through soil nitrogen partitioning. *Functional Ecology*, 2018, 32(7): 1879-1889.
- [36] 施秀珍, 王建青, 黄志群, 贺纪正. 树种多样性对土壤微生物群落结构和元素生物地球化学循环的影响研究进展. *生态学报*, 2022, 42(15): 6092-6102.
- [37] Liang M X, Liu X B, Parker I M, Johnson D, Zheng Y, Luo S, Gilbert G S, Yu S X. Soil microbes drive phylogenetic diversity-productivity relationships in a subtropical forest. *Science Advances*, 2019, 5(10): eaax5088.
- [38] Nguyen D, Castagnérol B, Bruehlheide H, Bussotti F, Guyot V, Jactel H, Jaroszewicz B, Valladares F, Stenlid J, Boberg J. Fungal disease incidence along tree diversity gradients depends on latitude in European forests. *Ecology and Evolution*, 2016, 6(8): 2426-2438.
- [39] Hantsch L, Braun U, Haase J, Purschke O, Scherer-Lorenzen M, Bruehlheide H. No plant functional diversity effects on foliar fungal pathogens in experimental tree communities. *Fungal Diversity*, 2014, 66(1): 139-151.
- [40] Qu Z L, Braima A, Liu B, Ma Y, Sun H. Soil fungal community structure and function shift during a disease-driven forest succession. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(5): e0079522.