

DOI: 10.20103/j.stxb.202406121365

冯哲, 孔涛, 张晓瑛, 赵文强, 寇涌苹. 两个海拔亚高山粗枝云杉林土壤真菌群落差异及其驱动因素. 生态学报, 2025, 45(4): 1987-1998.

Feng Z, Kong T, Zhang X Y, Zhao W Q, Kou Y P. Community differences and driving factors of soil fungi of subalpine *Picea asperata* forests at two altitudes. Acta Ecologica Sinica, 2025, 45(4): 1987-1998.

两个海拔亚高山粗枝云杉林土壤真菌群落差异及其驱动因素

冯 哲¹, 孔 涛^{1,*}, 张晓瑛^{2,3}, 赵文强², 寇涌苹²

1 辽宁工程技术大学环境科学与工程学院, 阜新 123000

2 中国科学院成都生物研究所, 成都 610213

3 成都师范学院创新创业学院 四川省特色园艺生物资源开发利用重点实验室, 成都 611130

摘要: 土壤真菌对维持植物地上生物量具有重要作用, 植物也会通过根系分泌物等调控土壤真菌群落组成, 然而, 人们对森林树种影响土壤真菌及其功能群落组成和多样性的认识仍不足。选择川西亚高山两种海拔 (2900 m 和 3200 m) 下年龄相似的粗枝云杉 (*Picea asperata*) 天然林为研究对象, 采集粗枝云杉根际、非根际及空地土壤, 采用高通量测序技术和 FUNGuild 数据库比对, 分析土壤真菌及其功能真菌群落的组成和多样性变化。结果表明, 土壤真菌及其功能真菌群落的组成和多样性在 3 个土壤取样位置间差异不显著, 但在 2 个海拔之间具有显著差异, 例如, 海拔 2900 m 和 3200 m 土壤的优势真菌分别为蜡壳耳属 (*Sebacina*) 和红菇属 (*Russula*)。对于真菌功能群落 α 多样性, 发现外生菌根 (ECM) 真菌群落的 ACE 指数在 2900 m 海拔处显著高于 3200 m 海拔, 而植物病原真菌的 ACE 指数和 Shannon 指数恰好相反, 土壤真菌及其腐生真菌群落的 α 多样性指数在不同海拔间无显著差异。进一步通过网络分析发现, 两个海拔之间土壤真菌群落的相互关系和核心菌群明显不同, 其中 3200m 海拔的土壤真菌群落表现出更明显的负相关性。另外, 影响土壤真菌及其功能群落的关键因子也不相同, 土壤真菌和腐生真菌群落主要受 pH 影响, 而外生菌根真菌和植物病原真菌群落分别受到土壤含水量和全氮的影响。本研究有助于深入理解森林生态系统的地下微生物学机制, 为森林保护和恢复提供科学依据。

关键词: 真菌群落; 功能真菌群落; 海拔; 高通量测序

Community differences and driving factors of soil fungi of subalpine *Picea asperata* forests at two altitudes

FENG Zhe¹, KONG Tao^{1,*}, ZHANG Xiaoying^{2,3}, ZHAO Wenqiang², KOU Yongping²

1 College of Environment Science and Engineering, Liaoning Technical University, Fuxin 123000, China

2 Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Science, Chengdu 610213, China

3 College of Innovation and Entrepreneurship, Sichuan Provincial Key Laboratory for Development and Utilization of Characteristic Horticultural Biological Resources, Chengdu Normal University, Chengdu 611130, China

Abstract: Soil fungi are crucial for sustaining plant aboveground biomass and in turn, plants influence the soil fungal community composition via root exudates. However, the impact of forest tree species on soil fungi, including the composition and diversity of their functional communities, is not well understood. In this study, *Picea asperata* natural forest with similar ages at two altitudes (2900 m and 3200 m) in the subalpine mountains of western Sichuan were selected to analyze the changes of soil fungi and their functional fungal communities composition and diversity by collecting the rhizosphere, non-

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (32171550); 中国科学院青年促进会项目 (2021371); 四川省科技计划 (2023NSFSC1188)

收稿日期: 2024-06-12; **网络出版日期:** 2024-11-06

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: kongtao2005@126.com

rhizosphere and bulk soil samples. The high-throughput sequencing technology and FUNGuild database comparison were used. The results show that the composition and diversity of soil fungi and their functional fungal communities were not significantly different among the three soil sampling sites, however, there were significant differences in the composition and diversity of soil fungi and their functional fungal communities between the two altitudes. For example, the dominant fungal genera at 2900 m and 3200 m were *Sebacina* and *Russula*, respectively. For the α diversity of fungal functional community, it was found that the ACE index of ectomycorrhizal (ECM) fungal community was significantly higher at 2900 m than at 3200 m altitude, while the ACE index and Shannon index of plant pathogenic fungal community show an opposite trend, and the α diversity index of soil fungi and their saprotrophic fungal communities had no significant difference at different altitudes. Network analysis revealed significant differences in the interactions between soil fungi and their core communities at the two altitudes, with the 3200m community exhibiting a notably stronger negative correlation. In addition, the key factors affecting soil fungi and their functional fungal communities were also different. The communities of soil fungi and saprotrophic fungi were mainly affected by pH, while the communities of ectomycorrhizal fungi and plant pathogenic fungi were affected by soil moisture content and total nitrogen, respectively. This study is helpful for further understanding the microbial mechanism of forest ecosystem and providing scientific basis for forest protection and restoration.

Key Words: fungal community; functional fungal community; altitude; high-throughput sequencing

土壤真菌是森林生态系统的重要组成部分,具有参与土壤养分循环、形成并稳定土壤团聚体^[1]、减少土壤侵蚀、促进植物营养吸收以及维持森林生态系统稳定等重要功能^[2-4]。土壤真菌种类繁多,按生活习性等可划分出多个功能群,如菌根真菌、植物病原真菌及腐生真菌等,这些功能菌群通常具有不同的生态策略,对植物生长产生不同的影响^[5]。菌根真菌可以与植物根系共生,具有促进植物养分吸收,提高宿主抗逆性和帮助植物抵御干旱等功能^[6-7]。植物病原真菌一方面会侵染植物并抑制其生长,影响森林生态系统的生产力和稳定性^[8],另一方面也可以通过加剧侵染优势植物种类抑制其生物量,从而维持生态系统的物种多样性^[9]。腐生真菌能够通过分解枯枝落叶,为植物生长提供碳源和能量^[10]。因此,研究森林生态系统土壤真菌及其功能真菌群落的变化特征,对深入了解地下微生物对森林生态系统群落多样性和稳定性的调节机制具有重要意义。

森林植物根系通过分泌各种化合物(糖、氨基酸、有机酸及次级代谢物等)的形式向土壤输入营养物质(碳源、氮源、化感物质及激素等)^[11],直接或间接地影响土壤真菌群落的组成和多样性^[12]。根据土壤受到植物根系影响的程度大小,可将植物周围土壤分为根际、非根际及远离植物影响的空地土区域^[13-14]。根际土壤是指围绕植物根的狭窄土壤区域,直接受到周围微生物和根系分泌物的影响^[15]。非根际土壤通常是指根际周围的土壤,距离根系较近^[16],但受植物根和根系分泌物的影响小于根际^[17]。而距离植物根系较远且周围植物分布较少,几乎不直接受到根系及其分泌物影响的土壤为空地土壤^[18]。近年来,许多研究强调区分根际、非根际和空地土壤的重要性^[19-21]。由于植物根系及其根系分泌物的调控作用,有研究显示根际、非根际和空地土壤真菌群落具有显著差异^[22]。然而,也有森林土壤中研究显示根际和非根际土壤真菌群落无显著差异^[23]。这些矛盾的研究结果说明人们对森林植物根系调控真菌群落的机理认知不足,从而限制了对森林生态系统稳定性维持机制的理解。并且,现有的研究大多集中于探究不同植物物种^[24]、林分年龄^[25-26]或演替阶段^[27]中真菌群落在根际、非根际及空地土之间的分布特征,而对森林真菌及其功能群落在根际、非根际及空地土的变化趋势研究不足,这使人们对森林植物根系对真菌群落的调控机理了解受到限制。

除了植物,土壤和气候环境等因素也会显著影响土壤真菌群落^[28]。长久以来,海拔作为气候和植被环境变化的综合指示,经常被用来检验气候和环境对土壤真菌的综合影响^[29]。已有研究发现,真菌群落组成和多样性随海拔梯度升高表现出升高^[30]、降低^[31]或不明显^[32]等差异响应机制。对于真菌功能群,Veach 研究表明腐生真菌的相对丰度沿海拔梯度增加,而共生真菌中外生菌根真菌的变化不明显^[32]。但在日本山地森林

中的一项研究结果显示,腐生真菌相对丰度随海拔的升高而降低,外生菌根真菌呈现相反趋势^[33]。由此可见,关于不同海拔梯度的土壤真菌多样性及其功能群组成变化的认识仍然有限,并且,很少有研究探讨土壤真菌功能菌群的组成及其多样性受海拔影响的变化。随着分子生物学技术的快速发展,高通量测序技术、FUNGuild 数据库及分子生态网络等生物信息学分析手段可用来进一步分析森林土壤真菌及其功能群落,以及菌群之间的相互作用变化,从而更深入地理解森林土壤真菌多样性及其相互作用^[34—35]。

位于长江上游的西南亚高山森林是青藏高原东部高山森林的主体,在水土保持和气候调节方面发挥重要作用^[36]。该地区森林主要由云杉、冷杉等针叶树种组成,具有典型的外生菌根共生的生态特征^[37—38]。而该地区森林土壤真菌及其功能菌群在根系作用强度不同(即根际、非根际和空地土)位置间的变化趋势,及其在不同海拔上的变化趋势和影响因素尚不清楚。因此,本文以亚高山粗枝云杉(*Picea asperata*)天然林为研究对象,分析受粗枝云杉根系不同程度影响下的土壤真菌及其功能真菌群落的组成和多样性的变化趋势,及其在不同海拔(2900 m 和 3200 m)之间的差异和驱动因素。试图回答以下问题:(1)根际、非根际及空地土壤的真菌及其功能真菌群落的组成和多样性之间的差异及影响因素;(2)不同海拔梯度粗枝云杉天然林土壤真菌及其功能真菌群落的组成和多样性差异及影响因素。通过以上研究,以期了解粗枝云杉天然林土壤真菌及其功能菌群组成和多样性在土壤微环境中随海拔分布和驱动因素,对深入了解川西亚高山针叶林地下微生物群落构建机制具有科学意义。

1 材料与方法

1.1 研究区概况及样品采集

米亚罗林区位于四川省理县,地理坐标范围为 31°37′—31°48′ N, 102°42′—102°52′ E。该地属季风性山地气候区,海拔 2045—3413 m,最冷月(1 月)平均气温 -8℃,最暖月(7 月)平均气温 12.6℃,年降水量 600—1100 mm。

选取两个海拔(2900 m 和 3200 m)的粗枝云杉天然林(约 200 年生)作为研究对象。在两个海拔上选取坡度、坡面朝向、土壤类型及地质条件相似的粗枝云杉天然林建立 100 m×100 m 的样地,每个样地中按照五点法各布设 5 个 10 m×10 m 样方,样方之间距离至少 50 m,随后针对样方进行植物群落调查。然后,在每个样方内选取 2 株粗枝云杉,采用根系追踪法,从四个正交方向,距离树约 1.5 m 左右的位置挖取树木根系^[36]。用锄头在距离地表 0—20 cm 处挖出植物根系,轻轻摇晃收集松散的非根际土壤(NR),用消毒棉签擦拭根部土壤并收集作为根际土壤(R),采用直径为 9 cm、深度为 10 cm 的土钻在粗枝云杉林植被覆盖范围下、地表无植被生长且地下无根系延伸的区域采集土壤作为空地土(B)。然后,将同一个样方采集的云杉根际、非根际和空地土壤分别混合均匀成为一个土壤样品后装入无菌自封袋后,低温条件运送回实验室保存备用,其中每份土壤重量约为 25g。总的来看,在两个海拔收集了粗枝云杉根际、非根际和空地土壤样品各 5 个,总共得到 30 个土壤样本(根际、非根际和空地土壤各 10 个样品)。

1.2 土壤理化指标测定

土壤酸碱度 pH 和电导率(EC)分别用 pH 计和电导仪测定(土:水=1:5)。土壤含水率(SMC)通过烘干法(80℃烘干至恒重)测定。土壤全氮(TN)和全磷(TP)分别用凯氏定氮法和钼锑抗比色法测定;土壤硝态氮(NO₃⁻-N)和铵态氮(NH₄⁺-N)使用 2 mol/L 的氯化钾溶液浸提(土:浸提液=1:5)后分别使用酚二磺酸和靛酚蓝比色法对浸提液进行测定;土壤有机碳(SOC)用重铬酸钾氧化外加热法测定^[39]。

1.3 土壤样品 DNA 提取及高通量测序

称取 0.25 g 土壤,采用试剂盒(MOBIO,美国)参照说明书提取土壤真菌基因组 DNA。提取出的 DNA 样品在 NanoDrop(Thermo Fisher Scientific,美国)上测定浓度和纯度。用真菌 ITS2 区域的引物 gITS7F(5'-GTGARTCATCGARTCTTTG-3')和 ITS4R(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')进行扩增^[40]。PCR 扩增体系及反应程序见参考文献^[41]。将 PCR 扩增产物进行凝胶电泳,利用 AXYGEN 胶回收,通过 NanoDrop 分光光度计

检测产品质量,等摩尔质量混合合格样品的 PCR 产物送交北京百迈客生物科技有限公司进行测序。采用 Illumina Hiseq(PE 250×250)平台根据 barcode 条形码对原始序列进行修剪和质量过滤,以每个样本 8000 个序列的相等深度进行随机重采样。

1.4 统计分析

采用单因素方差分析法对土壤真菌及其功能真菌(属水平)群落组成的差异性进行分析。使用 R 语言 vegan 包计算 Shannon 指数、ACE 指数及 Bray-Curtis 距离矩阵。利用主坐标分析(Principal coordinates analysis, PCoA)对土壤真菌及其功能真菌群落的 β 多样性进行可视化。使用线性判别分析(Linear discriminant analysis effect size, LEfSe)方法分析土壤真菌属水平的差异物种,选择标准为:线性判别分析得分(LDA score) > 3.5, $P < 0.05$ 。用 Spearman 相关性分析方法研究环境变量与土壤真菌及其功能真菌 α 多样性(Shannon 指数和 ACE 指数)的相关性。利用曼特尔检验(Mantel test)方法分析环境因子与土壤真菌及其功能真菌群落组成的相关性。以真菌属水平相对丰度为对象,在 MENA(Molecular Ecological Network Analyses Pipeline, <http://ieg4.rccc.ou.edu/mena>)网站上使用 0.72 的阈值构建 2900 m 和 3200 m 海拔梯度下的微生物网络。网络参数中关键物种的定义方式:模块内连通度(Z_i) ≥ 2.5 或者模块间连通度(P_i) ≥ 0.62 的 OTU 序列^[42],利用 Gephi 0.10.1 软件进行可视化。

2 结果与分析

2.1 不同海拔森林土壤真菌及其功能真菌群落组成

从四川省理县米亚罗林区粗枝云杉天然林的 2900 m 和 3200 m 海拔处采集的土壤样品中检测到 7 个门和 364 个属的真菌。在门水平上相对丰度由高到低依次为子囊菌门(Ascomycota, 44.9%—57.7%)、担子菌门(Basidiomycota, 27.6%—38.7%)及被孢霉门(Mortierellomycota, 0.9%—1.9%),其余门占比低于 0.3%(图 1)。在属水平上,采自 2900 m 和 3200 m 海拔的土壤样品中相对丰度最高的属分别为蜡壳耳属(*Sebacina*, 1.8%—12.8%)和红菇属(*Russula*, 1.9%—13.6%)(图 1)。

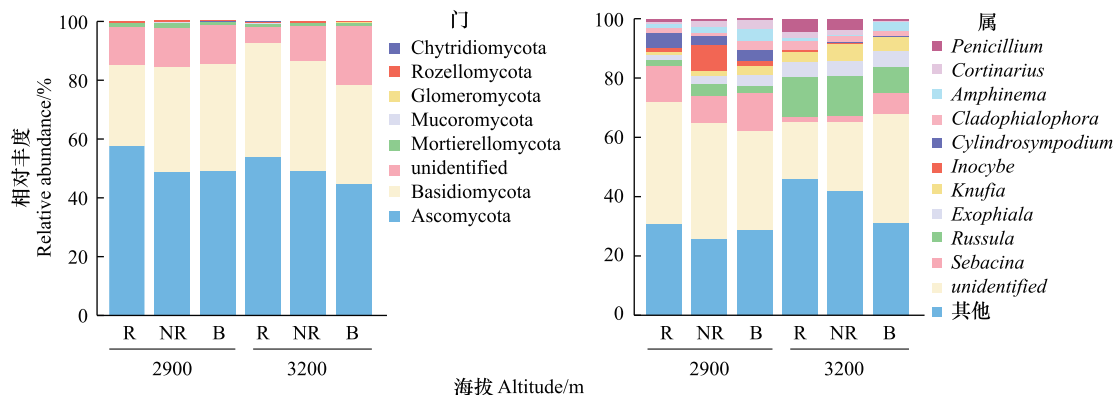


图 1 不同海拔森林土壤真菌群落门水平和属水平上的组成

Fig.1 The composition at the phylum and genus level of forest soil fungal communities at different altitudes

R、NR 和 B 分别代表根际、非根际和空地土壤

在 2900 m 和 3200 m 海拔的土壤样品中分析出外生菌根真菌 27 种(相对丰度 11.5%—20.8%),植物病原真菌 36 种(小于 0.01%),腐生真菌 114 种(11.4%—27.9%)。在 2900 m 海拔土壤样品中,外生菌根真菌、植物病原真菌及腐生真菌中相对丰度最高的属分别是丝盖伞属(*Inocybe*, 3.8%)、*Cylindrosyndrium*(4.0%)及 *Infundichalara*(2.3%);在 3200 m 海拔土壤样品中相对丰度最高的外生菌根真菌属分别是红菇属(*Russula*, 11.9%)、小球壳属(*Mycosphaerella*, 1.0%)及支孢瓶霉属(*Cladophialophora*, 6.4%)(图 2)。在 3200 m 海拔土壤样品中腐生真菌 *Leucoglossum*(0.4%)、小地锤菌属(*Cudoniella*, 0.04%)及枝孢菌属(*Cladorrhinum*, 0.01%)的

相对丰度显著高于 2900 m 海拔土壤样品,而白丝膜菌属(*Leucocortinarius*, 0.01%)的相对丰度低于 2900 m 海拔土壤样品($P < 0.05$)。

通过单因素方差分析比较两个海拔的根际、非根际及空地土壤的功能真菌群落,结果显示,2900 m 海拔的根际土壤样品(2900 R)中的瑰丽盘菌属(*Rhodocypha*, 0.01%)和外生菌根真菌棉革菌属(*Tomentella*, 0.04%—0.80%)、乳牛肝菌属(*Suillus*, 0.03%)的相对丰度显著高于 3200 m 根际土壤样品(3200 R) ($P < 0.05$), 2900 m 海拔非根际土壤样品(2900 NR)中的腐生真菌 *Roussoella* (0.01%) 相对丰度显著高于 3200 m 非根际土壤样品(3200 NR) ($P < 0.05$) (图 2)。

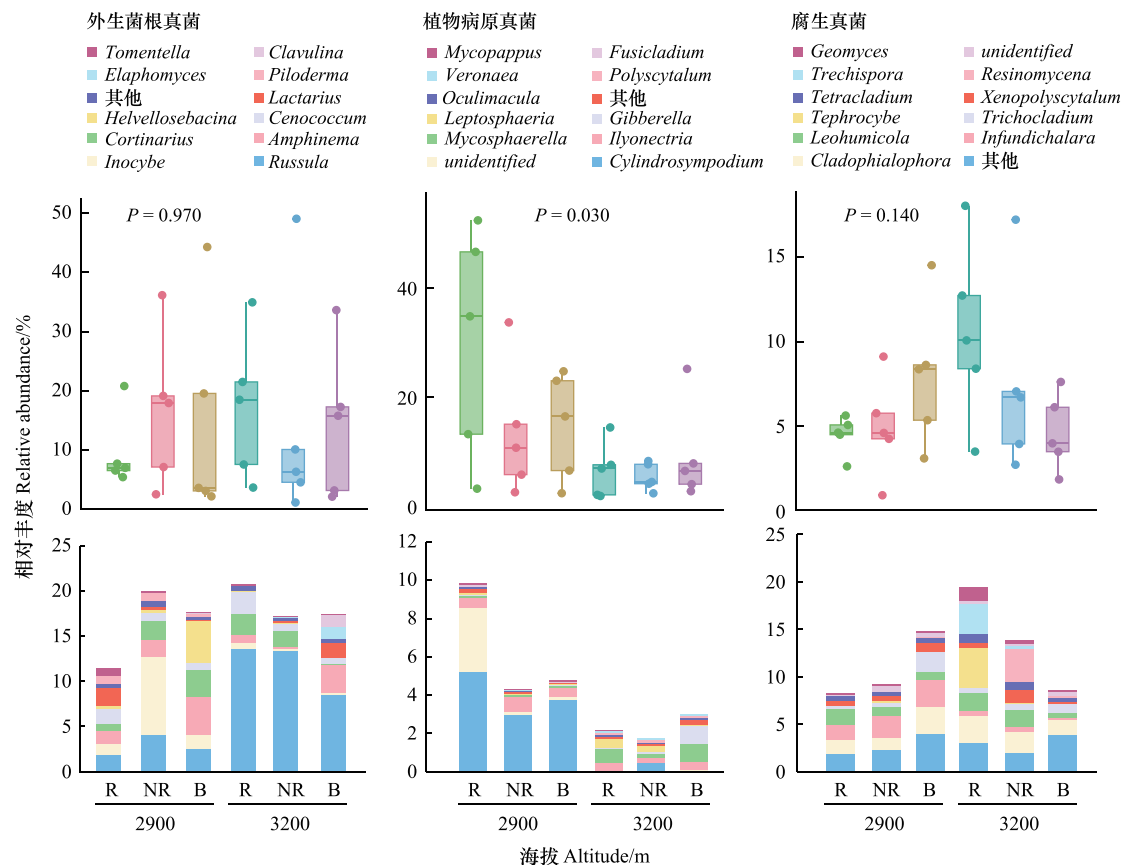


图 2 不同海拔森林土壤中功能真菌群落属水平上的相对丰度

Fig.2 Relative abundance of functional fungal communities at the genus level in forest soil at different altitudes

通过 LEfSe 分析,判断不同样品中具有显著差异的真菌类群(图 3),结果表明,2900 m 和 3200 m 海拔土壤样品中分别富集了 9 和 11 个指示真菌(属);在根际、非根际及空地土壤中分别富集了 8、4 及 8 个。2900 m 海拔根际土壤样品的指示真菌 *Cylindrosyndonium*、非根际土壤的指示真菌丝盖伞属(*Inocybe*)、空地土壤的指示真菌蜡壳耳属(*Sebacina*)和 3200 m 海拔根际土壤样品的指示真菌青霉菌属(*Penicillium*, 0.22%—4.12%)均为相对丰度较高的优势真菌类群。

2.2 不同海拔森林土壤真菌及其功能真菌群落 Alpha 多样性

分析结果表明,根际、非根际和空地土壤样品中的真菌及其功能真菌的 α 多样性 Shannon 指数和 ACE 指数无显著差异($P > 0.05$),但外生菌根真菌的 ACE 指数在 2900 m 海拔处显著大于 3200 m 海拔($P < 0.05$),植物病原真菌的 Shannon 指数和 ACE 指数在 3200 m 海拔处显著大于 2900 m 海拔($P < 0.05$) (图 4)。

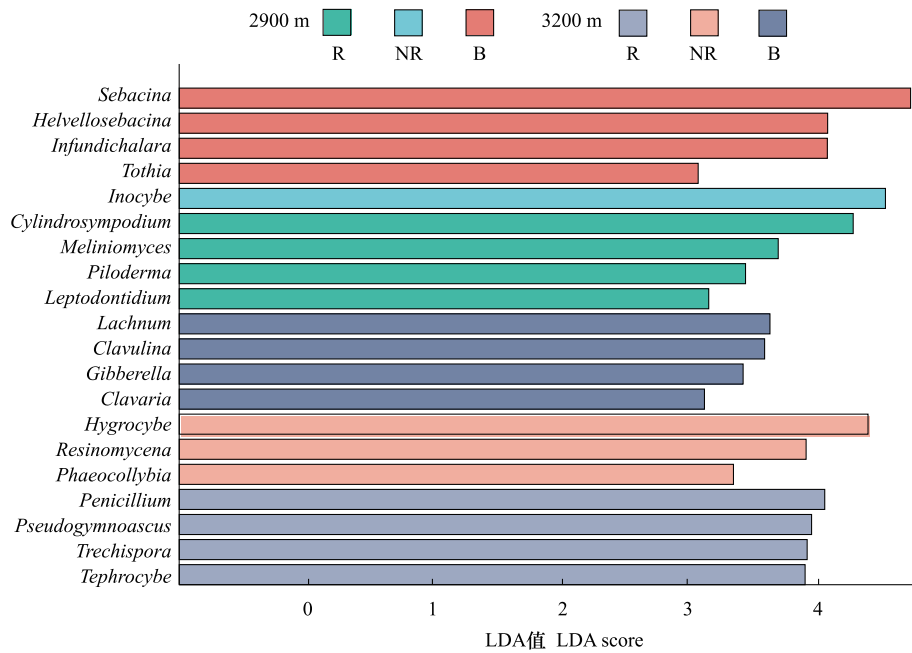


图 3 不同海拔森林土壤真菌群落 LEfSe

Fig.3 LEfSe of forest soil fungal communities at different altitudes

LEfSe (LDA Effect Size) 分析; LDA (Linear discriminant analysis, 线性判别分析) 值

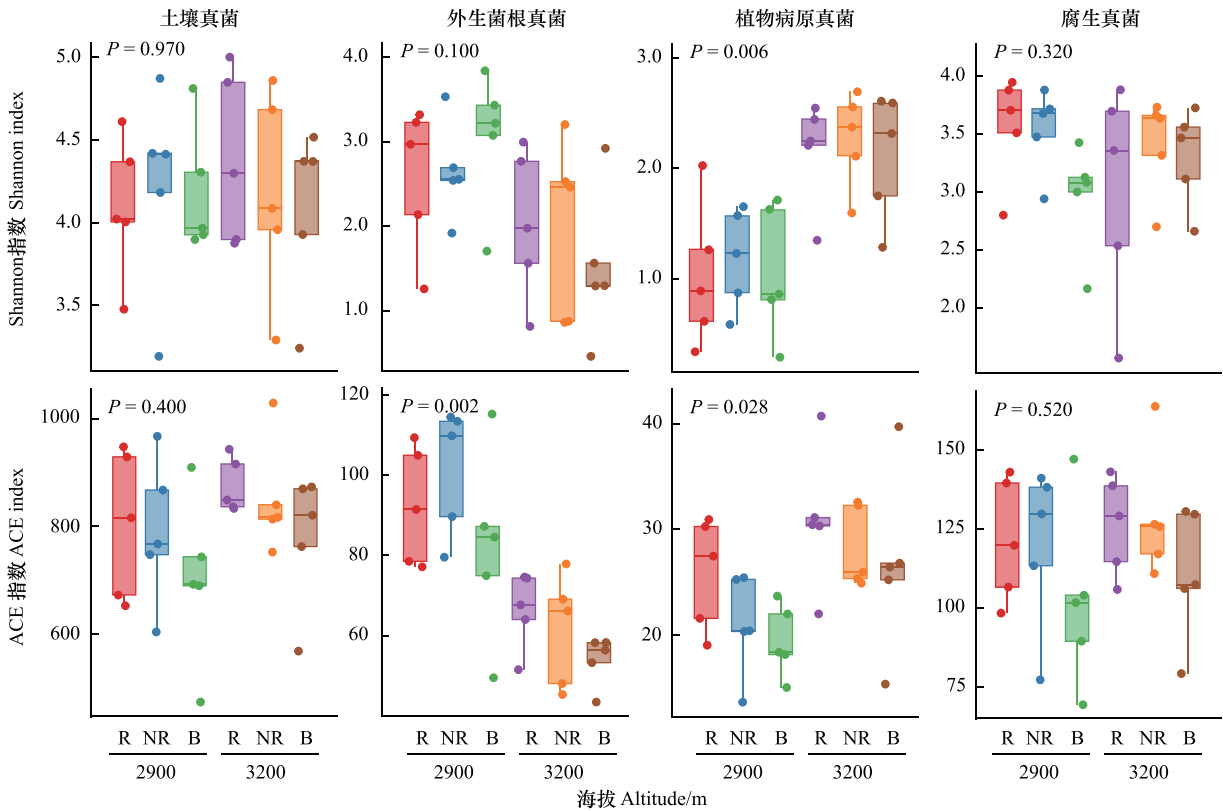


图 4 不同海拔森林土壤真菌及其功能真菌群落 Alpha 多样性指数

Fig.4 Alpha diversity index of forest soil fungi and their functional fungal communities at different altitudes

ACE (Abundance-based Coverage Estimator) 指数

通过 Spearman 组间相关性分析 α 多样性与土壤因子的关系(图 5),结果表明:pH 与土壤真菌及其功能真菌群落的 ACE 指数均显著相关($P<0.05$),除与外生菌根真菌显著正相关外,与其他真菌群落呈显著负相关。土壤真菌的 Shannon 指数与 EC 显著负相关,植物病原真菌群落的 α 多样性(ACE 和 Shannon 指数)与 SMC 显著正相关。

2.3 不同海拔森林土壤真菌及其功能真菌群落 Beta 多样性

对不同海拔森林土壤样品的真菌群落及其功能真菌群落进行 PCoA,结果显示,2900 m 海拔森林土壤样品的真菌群落及其功能真菌群落与 3200 m 海拔森林土壤样品的真菌群落及其功能真菌群落明显不同(图 6)。进一步通过置换多元方差分析发现,在 2900 m 和 3200 m 海拔土壤样品中的真菌群落及其功能真菌群落的 β 多样性存在显著差异($P<0.05$),但在根际、非根际及空地土壤中无显著差异($P>0.05$)。

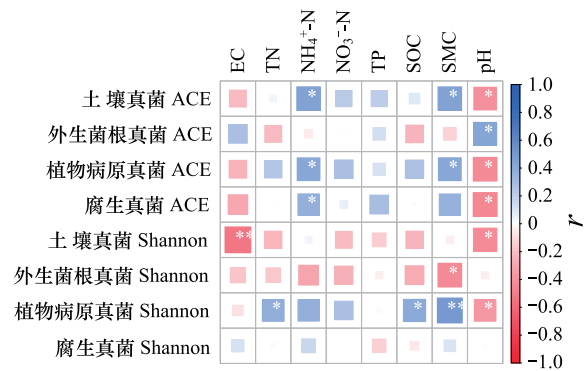


图 5 不同海拔森林土壤真菌及其功能真菌群落 Alpha 多样性相关性分析

Fig.5 Alpha diversity correlation analysis of forest soil fungi and their functional fungal communities at different altitudes

EC:电导率 electrical conductivity; TN:全氮 total nitrogen; NH₄⁺-N:铵态氮 ammonium nitrogen; NO₃⁻-N:硝态氮 nitrate nitrogen; TP:全磷 total phosphorus; SOC:土壤有机碳 soil organic carbon; SMC:土壤含水量 soil moisture content

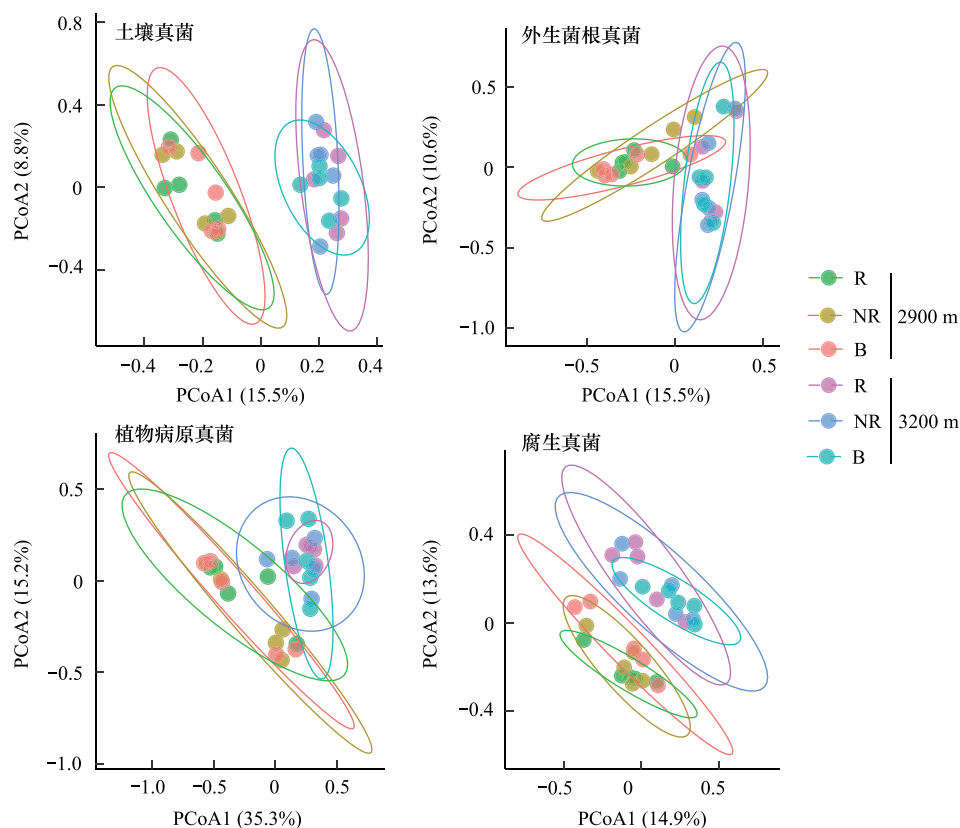


图 6 不同海拔森林土壤真菌及其功能真菌群落主坐标分析

Fig.6 Principal coordinates analysis of forest soil fungi and their functional fungal communities at different altitudes

通过 Mantel 分析森林土壤真菌及其功能真菌群落的影响因素(图 7),结果表明,SOC 显著影响土壤真菌及其功能真菌群落组成($P<0.05$)。pH 对土壤真菌及其腐生真菌的影响最显著(r 分别为 0.22 和 0.26, $P<$

0.01), SMC 对外生菌根真菌的影响最显著 ($r=0.20, P<0.05$), TN 对植物病原真菌的影响最显著 ($r=0.12, P<0.05$)。

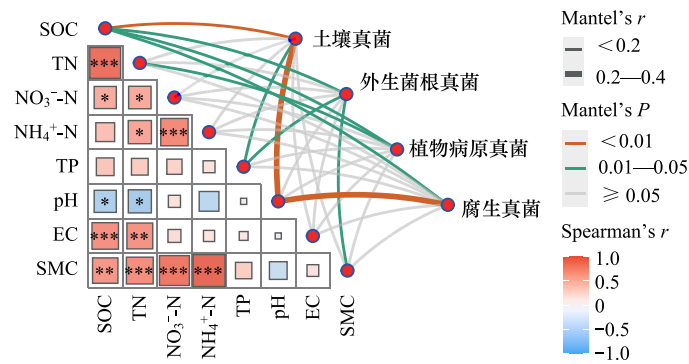


图 7 不同海拔森林土壤真菌及其功能真菌群落 Mantel 分析

Fig.7 Mantel analysis of forest soil fungi and their functional fungal communities at different altitudes

2.4 不同海拔森林土壤真菌群落分子生态网络分析

对 2900 m 和 3200 m 海拔的真菌群落 OTU 水平进行分子生态网络构建(图 8),相似性阈值为 0.72。结果表明(表 1),2900 m 和 3200 m 海拔森林土壤样品中真菌群落 ASV 的负相关连线数分别是 118 和 167,占相应网络总连线数的 51.53%和 59.01%。2900 m 海拔森林土壤中的模块数大于 3200 m 海拔森林土壤。2900 m 海拔森林土壤中的关键真菌类群是外生菌根真菌(锁瑚菌属, *Clavulina*)、腐生真菌(粒毛盘菌属, *Lachnum*)及非功能真菌(丛赤壳科, *Nectriaceae*) ($Z_i \geq 2.5$)。3200 m 海拔森林土壤中的关键真菌类群是外生菌根真菌(丝膜菌属 *Cortinarius*)、腐生真菌 *Leucoglossum* 及青霉属 *Penicillium*。

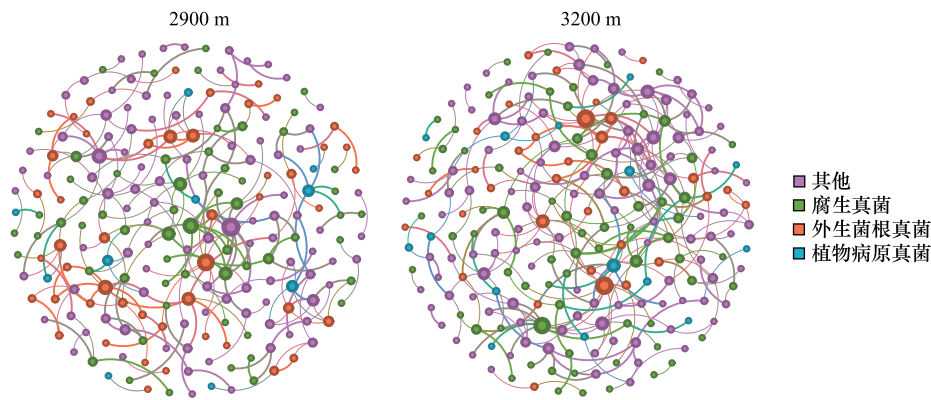


图 8 不同海拔森林土壤真菌群落共现网络分析

Fig.8 Co-occurrence network analysis of forest soil fungal communities at different altitudes

3 讨论

3.1 亚高山天然林粗枝云杉根系对土壤真菌及其功能真菌群落特异影响较小

在四川省理县米亚罗林区粗枝云杉天然林的 2900 m 和 3200 m 两个海拔下,土壤真菌及其功能真菌群落组成和多样性在 3 个土壤取样位置间差异均不显著,这可能是由于粗枝云杉林为典型的外生菌根真菌树种^[43],两个海拔的粗枝云杉林林分密度大,根系分布广^[23],树种可以通过复杂的根系和菌丝网络等分泌物调控土壤理化生境等继而对土壤真菌群落形成均质化影响^[44]。确实,研究发现,粗枝云杉林土壤真菌的优势门为子囊菌门、担子菌门及被孢霉门,这些类群真菌占比达到 98%。这与满百膺等对安徽省黄山森林土壤真菌

多样性的研究结果一致^[45]。子囊菌门和担子菌门中的真菌均具有纤维水解酶基因 *cbhI*,其表达的纤维素分解酶可促进蔗糖、纤维素、根系分泌物及腐殖质的形成,并释放可被植物吸收利用的营养物质,从而调控森林养分循环^[46]。亚高山针叶林土壤中针叶凋落物层厚,且其降解过程需要大量的纤维素分解酶^[47],这使得子囊菌门、担子菌门在这些土壤中占据优势地位。因此,亚高山粗枝云杉林的这些独特特点在森林土壤中构建了一个稳定和均衡的真菌生存环境,使得土壤真菌及其功能真菌群落不同采样位点间差异较小,呈现出均一的分布特征。

表 1 不同海拔森林土壤真菌群落分子生态网络拓扑参数
Table 1 Topological parameters of molecular ecological networks of forest soil fungal communities at different altitudes

拓扑属性 Topological characteristics		2900 m	3200 m
分子生态网络 Molecular ecological networks	节点	218	230
	连线 L	229	283
	r^2	0.932	0.898
	模块化	0.869	0.782
	平均聚集系数	0.1	0.058
	平均连通度	2.101	2.461
	平均路径长度	6.695	6.14
	正相关关系	48.5%	41.0%
	负相关关系	51.5%	59.0%
随机网络 Random network	模块化	0.781±0.010	0.704±0.010
	平均聚集系数	0.007±0.005	0.009±0.006
	平均路径长度	6.338±0.340	5.582±0.161

3.2 海拔是影响土壤真菌及其功能真菌群落的主要因素

本研究发现,在四川省理县米亚罗林区粗枝云杉天然林的 2900 m 和 3200 m 海拔梯度上相对丰度最高的是蜡壳耳属和红菇属,其中蜡壳耳属在 2900 m 海拔的相对丰度较高。有研究发现,蜡壳耳属广泛分布于各种森林土壤中,可以促进植物生长、营养吸收,提高种子产量、抗生物和非生物胁迫的抵抗力等^[48]。这与李敏等对内蒙古五处森林样地的研究结果一致^[49]。而 3200 m 海拔森林土壤中红菇属的相对丰度最高,该属真菌是针叶林中常见的外生菌根真菌^[50]。四川省理县米亚罗林区粗枝云杉天然林所在的亚高山地区由于其独特的环境条件,导致亚高山植物高度依赖与外生菌根真菌建立的共生互惠关系^[51],尤其红菇属更适合较高海拔生境。

在两个海拔之间,森林土壤真菌及其腐生真菌的 α 多样性指数(Shannon 指数和 ACE 指数)差异不显著,而外生菌根真菌与植物病原真菌的 α 多样性指数呈现相反分布趋势。具体而言,外生菌根真菌的 ACE 指数在 2900 m 海拔处的森林土壤中显著高于 3200 m 海拔,而植物病原真菌在 3200 m 海拔处的森林土壤中的 ACE 指数和 Shannon 指数显著高于 2900 m 海拔。外生菌根真菌可以调节宿主植物对病原菌的易感性,通过在菌丝套周围和哈氏网内部形成物理屏障等方式限制病原菌对植物的感染^[52]。因此,植物病原真菌与外生菌根真菌群落多样性在两个海拔森林土壤中呈相反分布趋势,这可能是由于外生菌根真菌对植物的保护机制及真菌群落间的相互作用^[53]。

土壤真菌网络分析结果发现,两个海拔森林土壤真菌群落之间主要呈负相关关系。网络节点之间的负相关关系代表了对有限资源的竞争、捕食、寄生等^[54],而竞争关系会提高群落的稳定性^[55]。值得注意的是,2900 m 海拔的网络分析的关键真菌类群并非是差异显著的真菌类群,表明 2900 m 海拔森林土壤中的真菌群落差异出现的变化并非由核心真菌群落引起。本研究发现,在 2900 m 海拔的森林土壤中的关键真菌类群粒毛盘菌属相对丰度较低,且网络节点数很少,表明稀有类群真菌也可能在某些土壤中成为关键类群。总的来说,两个海拔的森林土壤中真菌群落存在较强的竞争关系,利于土壤真菌群落的稳定。

通过 Spearman 组间相关性分析 α 多样性与土壤因子间的关系发现, pH 对土壤真菌及其功能真菌群落的 ACE 指数均具有显著影响。这是因为土壤 pH 值是土壤中结构化真菌丰富度、物种多样性及均匀度的最主要驱动因子^[56]。然而, 本研究发现影响森林土壤真菌及其功能真菌群落组成 β 多样性的环境因子存在差异。土壤真菌及其腐生真菌群落 β 多样性显著受土壤 pH 值影响。Park 等对赤松林土壤真菌的研究也发现, 土壤 pH 是土壤微生物群落的重要影响因子之一, 与其群落结构和组成存在密切联系^[57]。SMC 是显著影响外生菌根真菌的因子, 这可能是因为外生菌根真菌的外延菌丝能够增加对土壤的探索面积, 并且外生菌根真菌中存在水通道蛋白 (aquaporins), 可以调节植物根系对土壤水分的吸收能力^[58]。TN 显著影响植物病原真菌, 这可能是因为植物病原真菌的生长发育依赖于氨基酸, 而氨基酸是氮的关键运输形式^[59]。森林土壤中不同功能真菌群落的生态功能不同, 它们对土壤理化因子的反应存在差异^[60]。本研究表明, 亚高山粗枝云杉天然林土壤真菌及其功能菌群群落受不同土壤理化性质的调控, 从而保持亚高山森林土壤质量及植被多样性。

4 结论

本文研究结果表明, 四川省理县米亚罗林区粗枝云杉天然林的土壤真菌及其功能真菌群落组成和多样性在不同土壤取样位置差异不显著, 这可能是因为粗枝云杉树种对土壤真菌群落形成了均质化影响, 但是, 真菌群落组成及多样性在两个海拔间存在显著差异。进一步通过网络分析发现, 两个海拔的森林土壤真菌群落之间主要为竞争关系, 提高了群落的稳定性。另外, 在测定的土壤理化因子中, SOC、pH 和 SMC 等是塑造真菌群落结构的主要因素。本研究表明, 尽管森林土壤环境对其中的指示真菌群落有一定影响, 但海拔因素在影响真菌群落组成方面则扮演了更为关键的角色。本文研究结果为深入开展森林微生物生态系统的功能保护研究提供了指导方向。

参考文献 (References):

- [1] 叶佳舒, 李涛, 胡亚军, 郝志鹏, 高彦征, 王幼珊, 陈保冬. 干旱条件下 AM 真菌对植物生长和土壤水稳定性团聚体的影响. 生态学报, 2013, 33(4): 1080-1090.
- [2] Castaño C, Dejene T, Mediavilla O, Geml J, Oria-de-Rueda J A, Martín-Pinto P. Changes in fungal diversity and composition along a chronosequence of *Eucalyptus grandis* plantations in Ethiopia. Fungal Ecology, 2019, 39: 328-335.
- [3] Brundrett M C, Tedersoo L. Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. The New Phytologist, 2018, 220(4): 1108-1115.
- [4] Yang Y, Zhang Y E, Yu X X, Jia G D. Soil microorganism regulated aggregate stability and rill erosion resistance under different land uses. Catena, 2023, 228: 107176.
- [5] 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.
- [6] de Vries F T, Griffiths R I, Knight C G, Nicolitch O, Williams A. Harnessing rhizosphere microbiomes for drought-resilient crop production. Science, 2020, 368(6488): 270-274.
- [7] 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.
- [8] Delgado-Baquerizo M, Guerra C A, Cano-Díaz C, Egidio E, Wang J T, Eisenhauer N, Singh B K, Maestre F T. The proportion of soil-borne pathogens increases with warming at the global scale. Nature Climate Change, 2020, 10(6): 550-554.
- [9] 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(1): 305-325.
- [10] Bardgett R D, van der Putten W H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. Nature, 2014, 515(7528): 505-511.
- [11] Bai B, Liu W D, Qiu X Y, 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(2): 230-243.
- [12] Guajardo-Leiva S, Alarcón J, Gutzwiller F, Gallardo-Cerda J, Acuña-Rodríguez I S, Molina-Montenegro M, Crandall K A, Pérez-Losada M, Castro-Nallar E. Source and acquisition of rhizosphere microbes in Antarctic vascular plants. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 916210.
- [13] Zhalnina K, Louie K B, Hao Z, Mansoori N, da Rocha U N, Shi S J, Cho H, Karaoz U, Loqué D, Bowen B P, Firestone M K, Norrhen T R, Brodie E L. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. Nature Microbiology, 2018, 3(4): 470-480.
- [14] 郭华, 陈俊任, 钟斌, 刘晨, 吴家森, 何丽芝, 叶正钱, 柳丹. 毛竹根际与非根际土壤重金属、理化性质及酶活性特征. 生态学报, 2017,

- 37(18): 6149-6156.
- [15] Vishwakarma K, Kumar N, Shandilya C, Mohapatra S, Bhayana S, Varma A. Revisiting plant-microbe interactions and microbial consortia application for enhancing sustainable agriculture: a review. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 560406.
- [16] Peng X D, Dai Q H, Ding G J, Zhu C, Li C L. Distribution and accumulation of trace elements in rhizosphere and non-rhizosphere soils on a karst plateau after vegetation restoration. *Plant and Soil*, 2017, 420(1/2): 49-60.
- [17] Li Z G, Zu C, Wang C, Yang J F, Yu H, Wu H S. Different responses of rhizosphere and non-rhizosphere soil microbial communities to consecutive *Piper nigrum* L. monoculture. *Scientific Reports*, 2016, 6: 35825.
- [18] Addison S L, Rúa M A, Smaill S J, Daley K J, Singh B K, Wakelin S A. Getting to the root of tree soil microbiome sampling. *Phytobiomes Journal*, 2023, 7(3): 352-364.
- [19] Tang M, Liu J, Hou W P, Stubbendieck R M, Xiong H, Jin J, Gong J Y, Cheng C, Tang X X, Liu Y L, Li Z F, Wang J F, Yi Y. Structural variability in the bulk soil, rhizosphere, and root endophyte fungal communities of *Themeda japonica* plants under different grades of karst rocky desertification. *Plant and Soil*, 2022, 475(1/2): 105-122.
- [20] Zhang X Y, Zhao W Q, Kou Y P, Liu Y J, He H L, Liu Q. Secondary forest succession drives differential responses of bacterial communities and interactions rather than bacterial functional groups in the rhizosphere and bulk soils in a subalpine region. *Plant and Soil*, 2023, 484(1-2): 293-312.
- [21] 李丽娟, 谢婷婷, 张松林, 袁中勋, 刘明辉, 李昌晓. 三峡库区消落带 4 种适生植物根际与非根际土壤养分与酶活性特征研究. *生态学报*, 2020, 40(21): 7611-7620.
- [22] Fan K K, Cardona C, Li Y T, Shi Y, Xiang X J, Shen C C, Wang H F, Gilbert J A, Chu H Y. Rhizosphere-associated bacterial network structure and spatial distribution differ significantly from bulk soil in wheat crop fields. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 113: 275-284.
- [23] Fang K, Liu Y J, Zhao W Q, Liu J, Zhang X Y, He H L, Liu Q, Kou Y P, Liu Q. Stand age alters fungal community composition and functional guilds in subalpine *Picea asperata* plantations. *Applied Soil Ecology*, 2023, 188: 104860.
- [24] 刘玉, 温翠屏, 李艳萍, 彭逸生, 洪泽珊, 曾彩虹, 袁宝茵. 红树植物对根域真菌生态的影响. *生态学报*, 2015, 35(8): 2473-2480.
- [25] Odriozola I, Martinovic T, Bahnmann B D, Ryšánek D, Mašíňová T, Sedláč P, Merunková K, Kohout P, Tomšovský M, Baldrian P. Stand age affects fungal community composition in a Central European temperate forest. *Fungal Ecology*, 2020, 48: 100985.
- [26] Wang Y Z, Jiao P Y, Guo W, Du D J, Hu Y L, Tan X, Liu X. Changes in bulk and rhizosphere soil microbial diversity and composition along an age gradient of Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) plantations in subtropical China. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 12: 777862.
- [27] Xu H F, Du H, Zeng F P, Song T Q, Peng W X. Diminished rhizosphere and bulk soil microbial abundance and diversity across succession stages in Karst Area, southwest China. *Applied Soil Ecology*, 2021, 158: 103799.
- [28] Wang J, Liu G B, Zhang C, Wang G L, Fang L C, Cui Y X. Higher temporal turnover of soil fungi than bacteria during long-term secondary succession in a semiarid abandoned farmland. *Soil and Tillage Research*, 2019, 194: 104305.
- [29] Praeg N, Pauli H, Illmer P. Microbial diversity in bulk and rhizosphere soil of *Ranunculus glacialis* along a high-alpine altitudinal gradient. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1429.
- [30] Yu L M, Zhang Z F, Zhou L W, Huang K C. Effects of altitude and continuous cropping on arbuscular mycorrhizal fungi community in *Siraitia grosvenorii* rhizosphere. *Agriculture-Basel*, 2023, 13(8): 1548.
- [31] Ren C J, Zhou Z H, Guo Y X, Yang G H, Zhao F Z, Wei G H, Han X H, Feng L, Feng Y Z, Ren G X. Contrasting patterns of microbial community and enzyme activity between rhizosphere and bulk soil along an elevation gradient. *Catena*, 2021, 196: 104921.
- [32] Veach A M, Stokes C E, Knoepp J, Jumpponen A, Baird R. Fungal communities and functional guilds shift along an elevational gradient in the southern Appalachian Mountains. *Microbial Ecology*, 2018, 76(1): 156-168.
- [33] Shigyo N, Hirao T. Saprotrophic and ectomycorrhizal fungi exhibit contrasting richness patterns along elevational gradients in cool-temperate montane forests. *Fungal Ecology*, 2021, 50: 101036.
- [34] Hu L N, Li Q, Yan J H, Liu C, Zhong J X. Vegetation restoration facilitates belowground microbial network complexity and recalcitrant soil organic carbon storage in southwest China karst region. *Science of the Total Environment*, 2022, 820: 153137.
- [35] 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.
- [36] Zhang X Y, Zhao W Q, Liu Y J, He H L, Kou Y P, Liu Q. Dominant plant species and soil properties drive differential responses of fungal communities and functions in the soils and roots during secondary forest succession in the subalpine region. *Rhizosphere*, 2022, 21: 100483.
- [37] Li M P, Miao N, Zhang X, Liu S R. Spatial variations in ectomycorrhizal fungi and host tree reciprocal relations are associated with the local distribution patterns of Minjiang fir. *Forest Ecology and Management*, 2023, 540: 121052.
- [38] Zhao W Q, Wang X H, Howard M M, Kou Y P, Liu Q. Functional shifts in soil fungal communities regulate differential tree species establishment during subalpine forest succession. *Science of the Total Environment*, 2022, 861: 160616.
- [39] 鲍士旦. 土壤农化分析. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [40] Ihmarm K, Bödeker I T M, Cruz-Martinez K, Friberg H, Kubartova A, Schenck J, Strid Y, Stenlid J, Brandström-Durling M, Clemmensen K E, Lindahl B D. New primers to amplify the fungal ITS2 region—evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, 82(3): 666-677.

- [41] 刘艳娇, 樊丹丹, 李香真, 赵文强, 寇涌苹. 人工与天然云杉林土壤真菌群落多样性及菌群网络关系特征. 应用生态学报, 2021, 32(4): 1441-1451.
- [42] Zhou J Z, Deng Y, Luo F, He Z L, Yang Y F. Phylogenetic molecular ecological network of soil microbial communities in response to elevated CO₂. mBio, 2011, 2(4): e00122-e00111.
- [43] Liu J, Xia R X, Zhao W Q, Fang K, Kou Y P, Liu Q. Effects of plant root exudates at different successional stages on the seed germination and seedling growth of subalpine dominant tree species. Geoderma, 2024, 443: 116833.
- [44] Peng Z L, Johnson N C, Jansa J, Han J Y, Fang Z, Zhang Y L, Jiang S J, Xi H, Mao L, Pan J B, Zhang Q, Feng H Y, Fan T L, Zhang J J, Liu Y J. Mycorrhizal effects on crop yield and soil ecosystem functions in a long-term tillage and fertilization experiment. The New Phytologist, 2024, 242(4): 1798-1813.
- [45] 满百膺, 向兴, 罗洋, 毛小涛, 张超, 孙丙华, 王希. 黄山典型植被类型土壤真菌群落特征及其影响因素. 菌物学报, 2021, 40(10): 2735-2751.
- [46] 李丹丹, 梁进, 尹华军, 刘庆. 亚高山森林不同演替阶段物种间作用对土壤酶的影响及其对不同肥料的响应. 应用与环境生物学报, 2021, 27(3): 587-593.
- [47] Wang W B, Zhang Q, Sun X M, Chen D S, Insam H, Koide R T, Zhang S G. Effects of mixed-species litter on bacterial and fungal lignocellulose degradation functions during litter decomposition. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 141: 107690.
- [48] Oberwinkler F, Riess K, Bauer R, Selosse M A, Weiß M, Garnica S, Zuccaro A. Enigmatic Sebaciniales. Mycological Progress, 2013, 12(1): 1-27.
- [49] 李敏, 吕桂芬, 牛艳芳, 孟兆云, 杨勋爵. 内蒙古不同气候带白桦外生菌根真菌群落结构及影响因素. 生态学报, 2022, 42(12): 4847-4860.
- [50] Looney B P, Meidl P, Piatek M J, Miettinen O, Martin F M, Matheny P B, Labbé J L. Russulaceae: a new genomic dataset to study ecosystem function and evolutionary diversification of ectomycorrhizal fungi with their tree associates. The New Phytologist, 2018, 218(1): 54-65.
- [51] Lee J E, Eom A H. Diversity and community structure of ectomycorrhizal mycorrhizal fungi in roots and rhizosphere soil of *Abies koreana* and *Taxus cuspidata* in Mt. Halla. Mycobiology, 2023, 50(6): 448-456.
- [52] Gonthier P, Giordano L, Zampieri E, Lione G, Vizzini A, Colpaert J V, Balestrini R. An ectomycorrhizal symbiosis differently affects host susceptibility to two congeneric fungal pathogens. Fungal Ecology, 2019, 39: 250-256.
- [53] Tang M, Zhang R Q, Chen H, Zhang H H, Tian Z Q. Induced hydrolytic enzymes of ectomycorrhizal fungi against pathogen *Rhizoctonia solani*. Biotechnology Letters, 2008, 30(10): 1777-1782.
- [54] Hong Y H, Li H, Chen L K, Su H T, Zhang B, Luo Y, Li C J, Zhao Z G, Shao Y M, Guo L X. Short-term exposure to antibiotics begets long-term disturbance in gut microbial metabolism and molecular ecological networks. Microbiome, 2024, 12(1): 80.
- [55] Coyte K Z, Schluter J, Foster K R. The ecology of the microbiome: Networks, competition, and stability. Science, 2015, 350(6261): 663-666.
- [56] Wang J T., Zheng Y M, Hu H W, Zhang L M, Li J, He J Z. Soil pH determines the alpha diversity but not beta diversity of soil fungal community along altitude in a typical Tibetan forest ecosystem. Journal of Soils and Sediments, 2015, 15(5): 1224-1232.
- [57] Park K H, Yoo S, Park M S, Kim C S, Lim Y W. Different patterns of belowground fungal diversity along altitudinal gradients with respect to microhabitat and guild types. Environmental Microbiology Reports, 2021, 13(5): 649-658.
- [58] Becquer A, Guerrero-Galón C, Eibensteiner J L, Houdinet G, Bücking H, Zimmermann S D, Garcia K. The ectomycorrhizal contribution to tree nutrition. Advances in Botanical Research. Amsterdam: Elsevier, 2019, 89: 77-126.
- [59] Tünnermann L, Colou J, Näsholm T, Gratz R. To have or not to have: expression of amino acid transporters during pathogen infection. Plant Molecular Biology, 2022, 109(4/5): 413-425.
- [60] Schappe T, Albornoz F E, Turner B L, Jones F A. Co-occurring fungal functional groups respond differently to tree neighborhoods and soil properties across three tropical rainforests in Panama. Microbial Ecology, 2020, 79(3): 675-685.