

黔中地区马尾松-杜鹃群落杜鹃根围真菌多样性^①

熊 丹¹, 欧 静¹, 李林盼¹,
杨舒婷¹, 何跃军¹, 李朝婵²

1. 贵州大学 林学院, 贵阳 550025; 2. 贵州师范大学 贵州省山地环境重点实验室, 贵阳 550001

摘要: 选取黔中地区的贵阳市乌当区百宜乡(WD)、花溪区孟关(MG)和贵州省黔南龙里县龙架山森林公园(LL) 3 个地区的马尾松-杜鹃群落为研究对象, 采集杜鹃根围土壤进行高通量测序, 分析物种多样性, 并通过数量生态学原理分析植物群落物种 α 多样性及土壤养分对真菌群落的影响。结果表明: 从杜鹃的根围土壤中获得有效序列 505 444 条, 隶属于 9 门 23 纲 84 目 169 科 296 属真菌(3 435 OTU), 其中 LL 有真菌 9 门 19 纲 53 目 90 科 127 属(495 OTU)、WD 有 8 门 21 纲 78 目 150 科 246 属(1 076 OTU)、MG 有 6 门 17 纲 55 目 99 科 129 属(522 OTU)。菌群 α 多样性分析显示, Chao1, ACE, Shannon 指数均表现为 WD 大于 MG 和 LL。菌群群落结构受生境植物多样性、土壤养分的综合作用, 土壤有机质、pH 值以及速效磷、速效氮、全氮含量较大程度解释了真菌对土壤养分变化的响应。

关键词: 马尾松-杜鹃群落; 根围; 土壤真菌多样性; 高通量测序

中图分类号: Q938

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2019)07-0021-09

马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.)是我国南方地区造林先锋树种, 具有适应性强、用途广、速生丰产等优点, 贵州省马尾松资源分布不均衡、林地生产率低, 且低效林面积日益增加^[1-2]。杜鹃(*Rhododendron simsii* Planch.)常伴生于马尾松林下, 对维持马尾松林稳定性、提高林地生产力具有重要意义^[3]。植物与共生真菌之间的相互影响可以促进和维持两者地上和地下的多样性^[4], 充分了解土壤真菌的多样性和群落结构, 对有效促进农林牧业的生产, 维持生态系统物种的多样性、保持生态平衡等有重要意义^[5]。菌根围作为土壤-根系-微生物三者紧密结合且相互影响的区域^[6], 承载着植物、土壤和微生物之间的绝大部分物质、能量与信息的交换^[7]。真菌作为植物根围土壤中微生物的重要组成部分, 既能调节微生物数量和种群结构, 抑制病原菌生长^[8-10], 还能影响植物根系对矿质营养的吸收和分配, 增强植物的抗逆性^[11-14]。

目前已有大量有关不同生境下的马尾松林外生菌根(Ectomycorrhiza, ECM)^[15]和杜鹃属植物菌根(Ericoid Mycorrhiza, ERM)多样性的研究报道^[16-19], Heinonsalo 等^[20]对同一生境下的杜鹃属菌根及伴生植物菌根进行比较研究, 得出杜鹃属菌根真菌在其他植物根部也能形成, 共生植物菌根之间存在关联性。黔中地区马尾松纯林较广, 杜鹃作为伴生植物增加了森林物种的多样性, 但有关马尾松-杜鹃群落土壤真菌多样性的研究还罕见报道。笔者以杜鹃根围土壤作为研究对象, 探讨马尾松-杜鹃群落杜鹃根围土壤真菌的多样性, 在黔中地区选取 3 个相似植被类型的马尾松-杜鹃混交林样地, 以扩增子(internal transcribed spacer, ITS)区作为测序研究区, 通过数量生态学原理分析植物多样性及土

① 收稿日期: 2018-10-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(31460136, 31560223, 31660156); 贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2016]2522 号, 黔科合 LH 字[2017]7354 号)。

作者简介: 熊 丹(1991-), 女, 硕士研究生, 主要从事园林植物与观赏园艺研究。

通信作者: 欧 静, 教授, 硕士研究生导师。

壤养分对真菌群落的影响,为后续马尾松纯林改造、马尾松-杜鹃复合林地维护及森林组成、结构和多样性的调整奠定基础。

1 材料与方法

1.1 研究地概况

试验样地选取黔中地区的贵阳市乌当区百宜乡(WD)、花溪区孟关(MG)和贵州省黔南龙里县龙架山森林公园(LL)3个地区为样地,研究区植物群落从上到下依次为乔木层、灌木层、草本层,其中马尾松-杜鹃为样地常见植物群落。马尾松树高15~20 m,胸径25~35 cm;杜鹃高1.75~2.40 m,地径2.5~3.2 cm。此外,样地伴生植物还有白栎(*Quercus fabri* Hance)、茅栗(*Castanea seguinii* Dode)等多种灌木。黔中地区属亚热带季风性湿润气候,土壤以山地黄壤为主,呈酸性,土质黏重。年均温约15.3℃,年降雨量高于870 mm,平均相对空气湿度79.9%,日照百分率25.7%,无霜期200 d以上。

1.2 采样方法

于2017年5月15日、17日、20日分别在3个样地选取马尾松-杜鹃生长良好且杜鹃长势相似的群落,建立20 m×20 m的标准样方^[21],去除杜鹃垂直盖度以下的枯枝落叶层和杂物,由主干追踪到侧根和发根区域,挖出5~20 cm的杜鹃根段主要分布层,剪取粗壮发根并用毛刷刷取附着其上0~1 mm的根围0.5 g土壤用作杜鹃根围真菌多样性分析^[22]。每个地区选择3个样方采集3个样品,每个样品之间间隔超过5 m,试验一共9个样品,同时采取根际层(5~20 cm)用作土壤养分测定。试验工具在采样之前均经过严格灭菌处理,样本采集后立刻用液氮处理,带回后保存在-20℃冰箱中备用。

1.3 样地植物调查和土壤养分的测定

详细调查样方中的所有植物种类与数量,对样地植物进行α多样性分析:采用Shannon-Wiener多样性指数(D)和Pielou均匀度指数(J)分析3个样地植物多样性特征。

$$D = - \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i$$

$$J = - \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i / \ln S$$

式中S为物种数目,N为样地所有植物总数之和, P_i 为第*i*种植物所占的比例, $P_i = N_i / N$, N_i 为*i*种植物数量。根据鲍士旦《土壤农化分析》测定土壤pH值和有机质、全氮、速效氮、速效磷和速效钾(表1)。

表1 菌群生境环境因子

样地	土壤理化性质						植物群落物种α多样性	
	pH值	有机质/ (g·kg ⁻¹)	全氮/ %	速效氮/ %	速效磷/ %	速效钾/ %	D	J
LL	3.82±0.19b	37.32±0.19b	25.91±4.31c	1.82±0.13b	2.57±0.22a	32.48±3.77b	2.46±0.04b	0.43±0.01ab
MG	3.72±0.08b	61.97±6.87a	55.42±6.52a	3.43±1.07a	2.77±0.54a	42.19±2.83a	2.27±0.3b	0.37±0.05b
WD	4.46±0.22a	52.73±4.35a	41.35±9.34b	2.59±0.45ab	1.25±0.19b	34.75±5.71ab	2.93±0.12a	0.46±0.02a

注: D和J分别代表Shannon-Wiener多样性指数和Pielou均匀度指数。同列小写字母不同表示差异有统计学意义($p < 0.05$)。

1.4 菌根围真菌DNA提取及多样性分析

采用Illumina MiSeq二代测序平台对样本DNA片段进行双端测序(由上海派森诺生物测序公司完成)。利用试剂盒omega EZNA soil extraction kit提取杜鹃须根根围土壤中的真菌DNA样本,利用0.8%的凝胶电泳和紫外分光光度计检测DNA的质量和浓度。检测合格后,利用微生物rDNA-ITS保守区域设计引物,上游引物:5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3';下游引物:5'-GCTGCGTTCT-TCATCGATGC-3'^[23]。进行特异性扩增PCR反应程序为:98℃预热变性2 min;25个循环,每个循环98℃,热变性15 s,55℃退火30 s,72℃延伸30 s;最后72℃延伸5 min,10℃保存。将扩增产物进行回收、荧光定量,文库制备合格后上机测序。测序得到的基因序列提交至GenBank数据库 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRP133922>,登录号:SRP133922。获得原始数据后,对测序质量进行评估和

质控, 利用 QIIME 软件将 OTU (Operational Taxonomic Units) 归并和分类 (相似度阈值为 97%)^[24], 采用 UNITE 数据库^[25]进行 OTU 划分并对分类地位进行鉴定. 获得 OTU 丰度矩阵之后, 计算每个样本群落的 Alpha 多样性^[26-29].

采用 SPSS 2.0 软件, 运用差异显著法, 分析样地植物 α 多样性、土壤养分、杜鹃根围土壤真菌 α 多样性. 利用 Python 2.7 软件对组间显著性差异菌群作 Linear discriminant analysis effect size (LEfSe) 分析.

运用数量生态学原理, 利用 R 语言 ape 包、vegan 包、gsmplus 包对真菌纲水平作主坐标分析 (Principal Coordinates Analysis, PCoA), 对菌群结构与生境因子 (植物 α 多样性、土壤养分) 之间作冗余分析 (Redundancy Analysis, RDA).

2 结果与分析

2.1 不同区系杜鹃菌根围真菌多样性

试验共获得有效序列 505 444 条, count 值最多的是 265 bp, 达 44 656 条; 主要区间范围为 190~290 bp, length 值主要为 2 000~20 000. 总共检测到 3 435 个 OTU, 鉴定结果分属于 9 门 23 纲 84 目 169 科 389 属真菌, 其中 LL 杜鹃根围检测到真菌 9 门 19 纲 53 目 90 科 127 属 (495 个 OTU), WD 的真菌有 8 门 21 纲 78 目 150 科 246 属 (1 076 个 OTU), MG 则有 6 门 17 纲 55 目 99 科 129 属 (522 个 OTU). 所测得的 OTU 数量从大到小依次为 WD, MG, LL, 共有 OTU 数量 162 个, WD 特有的 OTU 数量为 685 个, MG 和 LL 分别为 192 个和 158 个, 3 个样地根围真菌 OTU 种类和数量差异较大.

根据菌群 OTU 阈值归并得出所有 OTU 主要分属于 9 门 (Pylum) 真菌: Ascomycota (63.6%), Basidiomycota (22.0%), Zygomycota (10.8%), Rozellomycota (0.2%), Glomeromycota (0.1%), Chytridiomycota (0.0%), Cercozoa (0.0%), Ciliophora (0.0%), Neocallimastigomycota (0.0%) (图 1a). Ascomycota 占比最高, 在 WD, MG, LL 所占比例分别是 62.58%, 52.63%, 75.71%; 其次是 Basidiomycota, 所占比例分别是 WD (33.62%), MG (18.97%), LL (13.515%).

9 个菌门分类鉴定得到 23 纲, 鉴别得丰度较高的 10 个纲依次为: Sordariomycetes (18.9%), Archaeorhizomycetes (18.3%), Eurotiomycetes (15.1%), Agaricomycetes (10.8%), Tremellomycetes (9.5%), Leotiomycetes (4.4%), Dothideomycetes (2.4%), Wallemiomycetes (2.4%), Incertae sedis (1.0%), Pezizomycetes (0.6%). 其中优势纲 Sordariomycetes 占比分别为 MG (7.96%), WD (24.88%), LL (23.96%); 其次是 Archaeorhizomycetes, 占比分别为 MG (14.28%), WD (5.44%), LL (35.08%).

84 目中丰度较高的 10 个目: Archaeorhizomycetales (18.3%), Eurotiales (14.1%), Hypocreales (13.4%), Tremellales (9.1%), Mortierellales (6.8%), Sebaciales (4.6%), Mucorales (3.8%), Geminibasidiales (2.4%); Incertae sedis (2.4%), Chaetosphaeriales (2.0%). 优势菌目 Archaeorhizomycetales 占比分别为 MG (14.28%), WD (5.44%), LL (35.08%); 其次是 Eurotiales, 占比分别为 MG (21.40%), WD (13.55%), LL (7.31%).

169 科中丰度较高的 10 个科依次为: Archaeorhizomycetaceae (18.3%), Trichocomaceae (14.1%), Mortierellaceae (9.1%), Cordycipitaceae (6.8%), Hypocreaceae (5.9%), Umbelopsidaceae (3.7%), Sebaciales. Group. B (2.9%), Geminibasidiaceae (2.4%), Myxotrichaceae (2.2%), Chaetosphaeriaceae (2.0%). 优势科 Archaeorhizomycetaceae 占比分别为 MG (14.28%), WD (5.44%), LL (35.08%); 其次是 Trichocomaceae, 占比分别为 MG (21.40%), WD (13.51%), LL (7.31%).

389 属真菌中优势菌群有: *Archaeorhizomyces* (18.3%), *Penicillium* (13.7%), *Oidiodendron* (2.1%), *Cordyceps* (5.5%), *Trichoderma* (3.9%), *Chloridium* (1.8%), *Cryptococcus* (8.8%), *Geminibasidium* (2.4%), *Tremellodendron* (1.5%), *Russula* (1.4%), *Mortierella* (6.8%), *Umbelopsis* (3.7%) 等 20 个属 (图 1b). 其中 LL 地区前 3 个优势属为 *Archaeorhizomyces* (35.08%), *Cordyceps* (16.58%), *Penicillium* (7.20%); WD 地区为 *Mortierella* (15.09%), *Penicillium* (12.85%), *Trichoderma* (6.10%); MG 为 *Penicillium* (20.95%), *Cryptococcus* (19.89%), *Archaeorhizomyces* (14.28%). 此外, 在能识别到的真菌属中, MG 特有真菌有 *Letrouitia*, *Inocybe*, *Brachyphoris*, *Placopsis*, *Suillus* 等, 比

例为 36.3%；WD 特有真菌有 *Harzia*, *Chalara*, *Verticillium*, *Odontia*, *Bandoniozyma* 等, 占 6.9%；LL 特有真菌有 *Wilcoxina*, *Hydnocystis*, *Sympodiella*, *Chaenothecopsis*, *Boletinellus* 等, 占 5.6%。

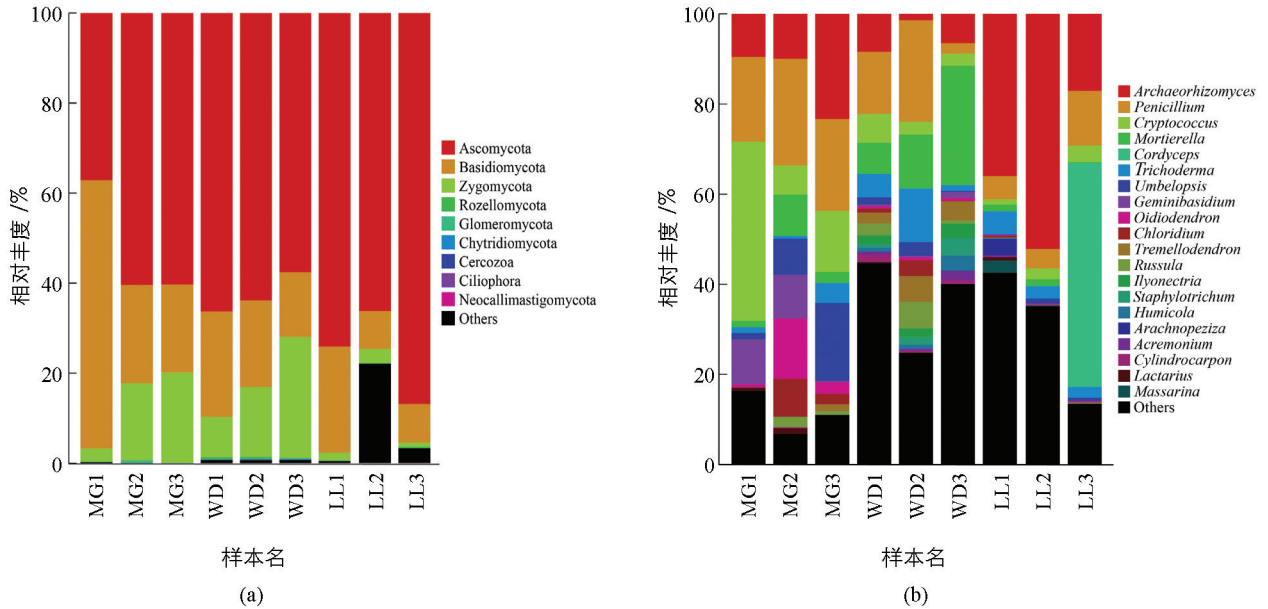


图 1 杜鹃根围真菌优势门(a)和优势属(b)真菌丰度

菌群多样性分析如表 2 所示, 3 个地区菌群 Simpson 指数差异不显著; Chao1 指数和 ACE 指数结果相似, WD 显著大于 MG 和 LL, 而 LL 和 MG 之间没有显著差异; Shannon 指数也是 WD 显著大于 MG 和 LL, MG 与 LL 之间差异不是很大。

表 2 马尾松-杜鹃群落杜鹃根围土壤真菌多样性指数

样地	Simpson 指数	Chao1 指数	ACE 指数	Shannon 指数
MG	0.88a	255.33b	255.33b	4.19b
WD	0.96a	635.00a	650.00a	6.15a
LL	0.83a	255.67b	255.89b	3.77b

注: 同列小写字母不同表示差异有统计学意义($p < 0.05$)。

2.2 根围真菌科水平群落结构

取菌群 169 科相对丰度最大的前 100 科, 运用 LEfSe 分析组间显著性差异菌群, 其中分值大于 3.0 的真菌种类有 34 个, 结果见图 2a。组间差异分类单元如图 2b 所示, LL 差异指示菌为 Archaeorhizomycetales 和 Archaeorhizomycetaceae; MG 为 Orbiliales 和 Orbiliaceae; WD 地区差异指示菌有: Geoglossales Geoglossaceae, Incertae sedis, Peltigerales Collemaaceae; Orbiliales Orbiliaceae, Leptosphaeriaceae; Hypocreales Bionectriaceae, Incertae sedis, Nectriaceae; Incertae sedis, Melanosporales, Ceratostomataceae; Xylariales Xylariaceae, unidentified; Boletales; Diplocystidiaceae, Boletaceae; Clavulinaceae; Clavulinaceae; Ganodermataceae, Polyporales; Sebacinaceae。可以看出, 乌当地区菌群差异指示菌最多, 达到 9 个目 18 个科, 而 LL, MG 分别只有 1 个目和 1 个科。

2.3 生境环境因子对真菌群落的影响

为了更好地了解杜鹃根围真菌分布的规律, 对 10 个优势菌纲做主坐标(PCoA)分析(图 3a)。得出 LL 地区主要的优势菌纲是 Sordariomycetes, Archaeorhizomycetes 和 2 个不确定的纲; WD 地区主要的优势菌纲有 Sordariomycetes, Leotiomycetes, Dothideomycetes 和 Incertae sedis; MG 地区的优势菌纲为 remellomycetes 和 Eurotiomycetes。RDA 分析植物群落物种多样性对前 10 个优势菌纲分布的影响(图 3b), 第 1 和第 2 主轴的累积方差贡献率为 65.26%; 其中第 1 主轴解释真菌纲水平组成方差变异的 38.20%, 第 2 主轴则为 27.06%; Shannon 多样性指数(D)、Pielou 均匀度指数(J)与 Archaeorhizomyce-

tes 呈正相关关系, 但与其他 9 个纲的真菌呈负相关关系. 利用偏冗余分析, 以植物多样性为协变量、土壤养分为解释变量、真菌优势纲为响应变量, 分析土壤养分对真菌群落结构的影响(图 3c). 第 1 和第 2 主轴累积方差贡献率为 66.78%, 其中第 1 主轴解释真菌纲水平组成方差变异的 38.26%, 第 2 主轴则为 28.52%. 土壤养分对 3 个区系的真菌纲水平的影响从大到小依次为 AN, TN, AP, C, pH 值, AK, 而且 AN, TN 与 AP 具有明显的协同作用; AP, AN, TN 与 Eurotiomycetes, Sordariomycetes, Tremellomyces 和 unidentified 菌群分布成正相关性, 对其影响最大; 而 C 与 Agaricomycetes, Dothideomycetes, Leotiomycetes, unidentified. 1 呈负相关性; pH 值, AK 与 Archaeorhizomycetes, Incertae sedis 呈负相关性. 由此得出真菌群落结构与生境土壤 AN, TN, AP, AK, pH 值, 植物多样性、均匀度之间密切相关. 再者, 结合菌群生境环境因子分析(表 1), 得出马尾松-杜鹃群落杜鹃根围土壤真菌群落结构主要受土壤 pH 值, TN, AN, AP, C 及植物 Shannon 多样性的综合影响.

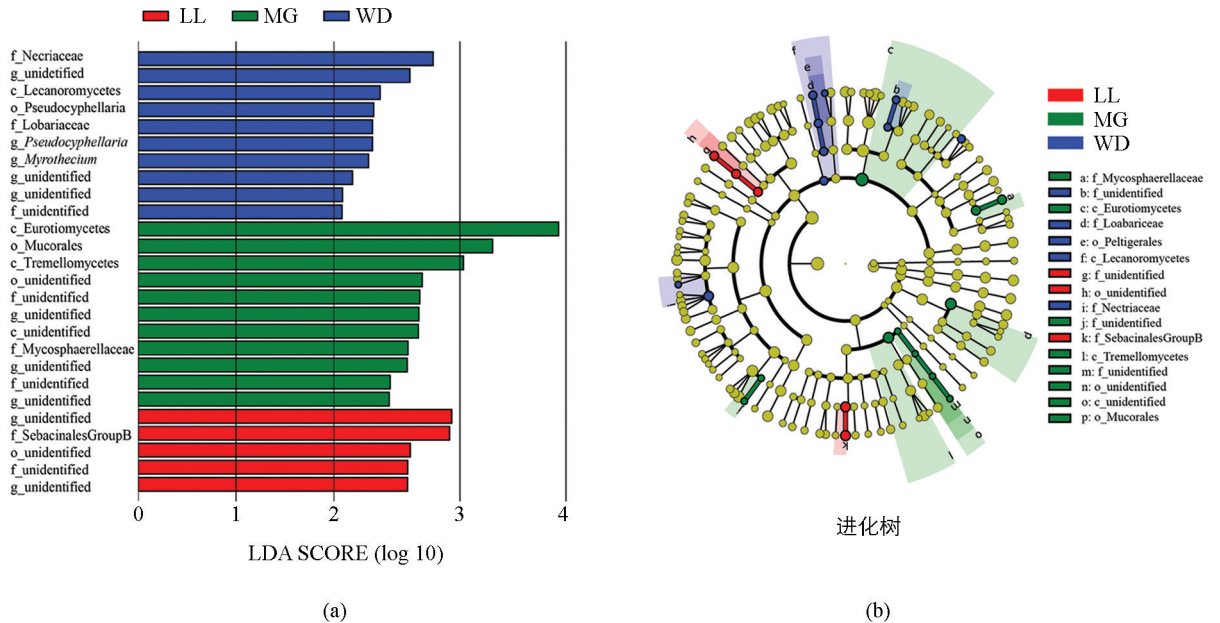


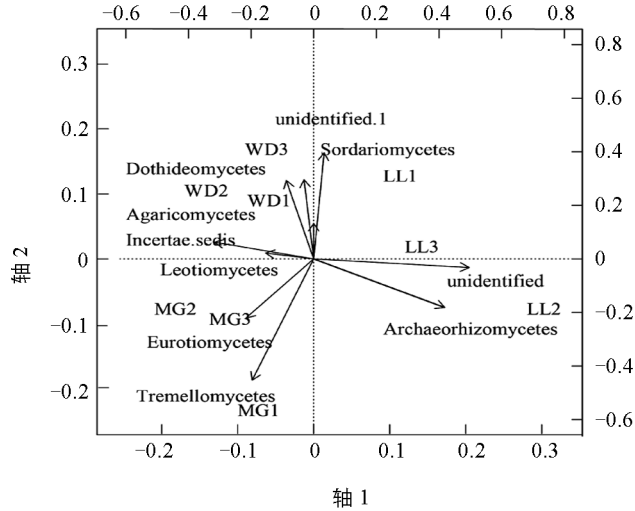
图 2 组间具有显著差异的分类单元(a)和基于分类等级树(b)的组间差异分类单元

3 讨论与结论

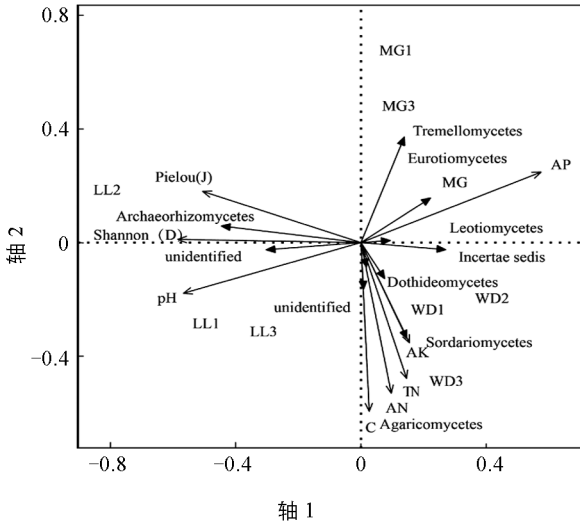
3.1 杜鹃根围土壤真菌多样性分析

黔中地区马尾松-杜鹃群落杜鹃根围拥有丰富的真菌多样性, 优势菌群主要为子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota)真菌. 子囊菌门有古生菌纲(Archaeorhizomycetes)、散囊菌纲(Eurotiomycetes)、锤舌菌纲(Leotiomycetes)等; 担子菌门有银耳纲(Tremellomycetes)、节担菌纲(Wallemiomycetes)、伞菌纲(Agaricomycetes)等. 已有研究表明, 土壤真菌的多样性与地上部分植物的多样性和生态环境相关^[30], 菌根类植物经常都拥有相似的真菌共生体, 真菌的类型取决于周围环境的植物类型^[31-32]. 马尾松菌根为外生菌根(ECM), 杜鹃菌根为杜鹃属植物菌根(ERM), 研究发现两者共同生活的栖息地拥有丰富的菌根菌类型. 杜鹃根围优势真菌有 ECM 伞菌纲的伞菌属(*Agaricomycetes*)和红菇属(*Russula*), 也有 ERM 锤舌菌纲树粉孢属(*Oidiodendron*)等. 根围作为杜鹃与外界信息交流的重要枢纽, 推测周围生长的马尾松菌根是外生菌根菌的重要来源. 此外, 研究发现的优势真菌已有大量报道, Rosling 等^[33]研究古生菌(Archaeorhizomyces)发现其普遍存在于松属、杜鹃属和其他阔叶树的根和根际土壤中, 表现出生态系统和寄主栖息地特异性, 其形成的菌根菌包括数百种复杂且不可识别的丝状菌根结构, 并具有腐生潜力. 被孢霉属(*Mortierella*)、木霉属(*Trichoderma*)和青霉属(*Penicillium*)具有腐生能力, 能够分解华山松针叶凋落物, 对生态系统养分循环具有促进作用^[34-35]. 青霉属、红菇属、蜡壳耳属(*Sebacina*)、隐球菌属(*Cryptosporiopsis*)等在不同林型马银花(*Rhododendron ovatum*)根部也有发现^[36]. 可以看出, 受

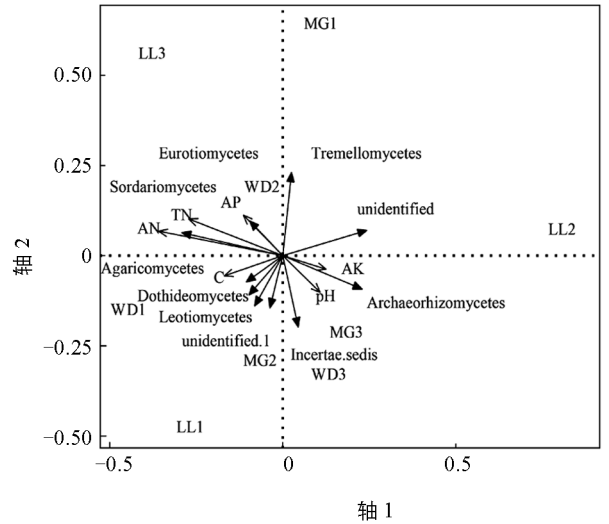
植物类型的影响, 马尾松-杜鹃群落杜鹃根围拥有丰富的真菌, 潜在功能性极高, 具有很大的真菌资源开发价值和生态研究意义。



(a)



(b)



(c)

图 3C 图中, C 为有机质, TN 为全氮, AN 为速效氮, AP 为速效磷, AK 为速效钾。

图 3 真菌在纲水平的主坐标分析(a)、基于纲水平下生境植物多样性(b)和土壤养分的偏冗余分析(c)

3.2 杜鹃根围共生真菌的群落结构差异

LEfSe 分析显示, 黔中 3 个地区之间菌群结构差异较大。前 100 个科真菌差异指示种中, 乌当(WD)地区菌群差异指示种达到 9 个目 18 个科, 而龙里(LL)、孟关(MG)分别只有 1 个目和 1 个科。这种差异可能是由于树种特性和丰富度、土壤理化性质因素造成^[37]。从菌群 Alpha 多样性来看, Chao1, ACE, Shannon 指数均为 WD 显著大于 MG 和 LL, 而 LL 和 MG 之间没有显著差异。WD 地区土壤 pH 值显著高于 MG 和 LL, 而 MG 和 LL 差异不显著, 据 Priyadharsini 等^[10]报道, pH 值影响真菌生长的环境并决定土壤中物质的存在状态, 推测 pH 值为影响 WD 地区菌群多样性的重要原因之一。不同区系真菌 OTU 数量从大到小依次为 WD, MG, LL, 植物 Shannon 多样性指数(D)从大到小依次为 WD, MG, LL, WD 地区菌群 OTU 数量最大, 植物多样性也最丰富。植物在空间和时间上的异质性投入增加了土壤生物的多样性^[38], 植物多样性对生态系统产生积极影响, 如增加森林生物量和土壤有机质的储存, 增加土壤微生物对根际光合碳的利用途径; 同样, 微生物的相互作用可以驱动生态系统的功能多样性, 如植物多样性增加, 生产力提高和应变能力增强等^[39-40]。

受植物种、植物群落和环境因子的相互作用, 植物组成接近的生态群落, 其环境因子组成上也比较接近, 土壤环境和植物多样性的差异促进了菌群数量和结构的多样化^[41]. RDA 分析显示, 真菌的群落结构受生境植物多样性和土壤养分综合影响, 造成了其群落结构的多样性, 其中真菌群落结构与土壤 pH 值, AN, TN, AP 及植物的 Shannon 指数(D)相关性较大. 与何苑焱等^[42]、Dickie 等^[43]的结论类似, 土壤真菌群落多样性指数与林下植被多样性、土壤全氮含量呈显著正相关关系. 也有研究者提出森林土壤真菌多样性与植物多样性呈负相关关系, 森林密度非常高的情况下, 容易形成单个物种的纯林模式, 植物多样性减少, 植物菌根菌类型也减少, 但其他真菌类型增加^[44]. 本研究得出 WD 地区马尾松-杜鹃混交林植物多样性最高, 杜鹃根围真菌也最丰富, 推测丰富的植物与土壤真菌形成了稳定的森林生态系统, 真菌多样性与生境植物多样性表现出一致规律. 这与 Kernaghan^[4]、Priyadharsini 等^[10]的观点相似, 植物分泌富含碳的有机物和激素等物质影响根围土壤微生物的种类和数量, 真菌促进植物对矿质元素和水分的获取, 不同营养方式的菌根菌与其他非菌根菌获取碳源的方式影响其与宿主的相互选择关系.

此外, 影响菌群结构的一个重要原因是真菌的扩散限制. 外生菌根真菌具有长距离分散作用, 而丛枝菌根真菌和其他类型菌根菌由于长距离扩散的效果较差, 早期演替过程中表现出较小的可预测性和随机性^[45]. 研究仅对土壤养分和植物群落物种 α 多样性进行分析, 植物根系分泌物的成分及其他环境因子还不了解, 种源差异、生长地的海拔差异都会影响杜鹃根际土壤微生物多样性及其群落结构^[46], 在今后的研究中将进行更深入的探讨和长期观察.

3.3 结 论

黔中地区马尾松-杜鹃群落杜鹃根围土壤真菌多样性丰富, 不同地区菌群群落结构受植物群落物种 α 多样性、土壤养分的综合作用导致差异较大, 植物多样性丰富的区系真菌多样性也最丰富. 土壤 pH 值、速效磷、有机质、全氮、速效氮与菌群多样性之间存在显著相关性.

参考文献:

- [1] 周政贤. 中国马尾松 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2001.
- [2] 刘建忠, 余 娜. 贵州省马尾松林地质量空间评价与低效林防控措施研究 [J]. 湖北农业科学, 2016, 55(20): 5202-5206.
- [3] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志·第 57(2)卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1994.
- [4] KERNAGHAN G. Mycorrhizal Diversity: Cause and Effect? [J]. Pedobiologia, 2005, 49(6): 511-520.
- [5] 徐丽娟, 刁志凯, 李 岩, 等. 菌根真菌的生理生态功能 [J]. 应用生态学报, 2012, 23(1): 285-292.
- [6] JOHANSSON J F, PAUL L R, FINLAY R D. Microbial Interactions in the Mycorrhizosphere and Their Significance for Sustainable Agriculture [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2004, 48(1): 1-13.
- [7] BAETZ U, MARTINOIA E. Root Exudates: The Hidden Part of Plant Defense [J]. Trends in Plant Science, 2014, 19(2): 90-98.
- [8] 董 艳, 董 坤, 杨智仙, 等. AM 真菌控制蚕豆枯萎病发生的根际微生物效应 [J]. 应用生态学报, 2016, 27(12): 4029-4038.
- [9] SMITH DE, READ DJ. Mycorrhizal Symbiosis [M]. London: Academic Press, 1997.
- [10] PRIYADHARSINI P, ROJAMALA K, RAVI R K, et al. Mycorrhizosphere: The Extended Rhizosphere and Its Significance [M]//Plant-Microbe Interaction: An Approach to Sustainable Agriculture. Singapore: Springer Singapore, 2016: 97-124.
- [11] 陈荣建, 熊 丹, 欧 静, 等. 持续干旱下杜鹃花类菌根真菌对桃叶杜鹃内源激素的影响 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2018, 40(3): 26-33.
- [12] 欧 静, 何跃军, 刘仁阳, 等. 杜鹃花类菌根真菌对桃叶杜鹃幼苗光合性能及叶绿素荧光参数的影响 [J]. 微生物学通报, 2013, 40(8): 1423-1436.
- [13] 欧 静, 刘仁阳, 陈 训. 桃叶杜鹃菌根显微结构及侵染情况 [J]. 中南林业科技大学学报, 2012, 32(11): 28-33.
- [14] BOOTH M G. Mycorrhizal Networks Mediate Overstorey-Understorey Competition in a Temperate Forest [J]. Ecology Letters, 2004, 7(7): 538-546.
- [15] 李 敏. 贵州主要马尾松群落中 ECM 真菌多样性研究 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2016.

- [16] 刘仁阳, 欧静, 李冠楠, 等. 梵净山雷山杜鹃根部真菌分离与鉴定 [J]. 西北农业学报, 2014, 23(4): 178-185.
- [17] 刘振华. 杜鹃花菌根真菌分离鉴定及多样性分析 [D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2010.
- [18] 张春英, 戴思兰. 杜鹃花类菌根研究进展 [J]. 北京林业大学学报, 2008, 30(3): 113-119.
- [19] LIN L C, LEE M J, CHEN J L. Decomposition of Organic Matter by the Ericoid Mycorrhizal Endophytes of Formosan Rhododendron (*Rhododendron formosanum* Hemsl.) [J]. Mycorrhiza, 2011, 21(5): 331-339.
- [20] HEINONSALO J, KOSKIAHDE I, SEN R. Scots Pine Bait Seedling Performance and Root Colonizing Ectomycorrhizal Fungal Community Dynamics before and during the 4 Years after Forest Clear-Cut Logging [J]. Canadian Journal of Forest Research, 2007, 37(2): 415-429.
- [21] 崔宁洁, 陈小红, 刘洋, 等. 不同林龄马尾松人工林林下灌木和草本多样性 [J]. 生态学报, 2014, 34(15): 4313-4323.
- [22] 王圳, 张金池, 崔晓晓, 等. VA 菌根对喀斯特草本群落植物根际养分影响研究 [J]. 生态环境学报, 2010, 19(7): 1574-1577.
- [23] GILBERT J A. PCR Primers for Metazoan Nuclear 18S and 28S Ribosomal DNA Sequences [J]. PLoS One, 2012, 7(9): e46180. DOI: 10.1371/journal.pone.0046180.
- [24] EDGAR R C. Search and Clustering Orders of Magnitude Faster than BLAST [J]. Bioinformatics, 2010, 26(19): 2460-2461.
- [25] KÒLJALG U, NILSSON R H, ABARENKOV K, et al. Towards a Unified Paradigm for Sequence-Based Identification of Fungi [J]. Molecular Ecology, 2013, 22(21): 5271-5277.
- [26] CAUSEY B D. Parametric Estimation of the Number of Classes in a Population [J]. Journal of Applied Statistics, 2002, 29(6): 925-934.
- [27] CHAO A N, YANG M C K. Stopping Rules and Estimation for Recapture Debugging with Unequal Failure Rates [J]. Biometrika, 1993, 80(1): 193-201.
- [28] SHANNON C E. A Mathematical Theory of Communication [J]. Bell System Technical Journal, 1948, 27(4): 623-656.
- [29] SIMPSON E H. Measurement of Diversity [J]. Nature, 1949, 163(4148): 688.
- [30] 魏源, 王世杰, 刘秀明, 等. 喀斯特地区丛枝菌根真菌遗传多样性 [J]. 生态学杂志, 2011, 30(10): 2220-2226.
- [31] MANGAN S A, HERRE E A, BEVER J D. Specificity between Neotropical Tree Seedlings and Their Fungal Mutualists Leads to Plant-Soil Feedback [J]. Ecology, 2010, 91(9): 2594-2603.
- [32] SPENCE L A, DICKIE I A, COOMES D A. Arbuscular Mycorrhizal Inoculum Potential: A Mechanism Promoting Positive Diversity-Invasibility Relationships in Mountain Beech Forests in New Zealand? [J]. Mycorrhiza, 2011, 21(4): 309-314.
- [33] ROSLING A, COX F, CRUZ-MARTINEZ K, et al. Archaeorhizomycetes: Unearthing an Ancient Class of Ubiquitous Soil Fungi [J]. Science, 2011, 333(6044): 876-879.
- [34] GUO M Y, LIU Y, GAO Y H, et al. Identification and Bioactive Potential of Endogenetic Fungi Isolated from Medicinal Caterpillar Fungus *Ophiocordyceps Sinensis* from Tibetan Plateau [J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2017, 19(2): 307-313.
- [35] 许秀兰, 杨春琳, 田莎, 等. 华山松凋落针叶上的真菌多样性及 4 株真菌的纤维素分解能力 [J]. 林业科学, 2016, 52(1): 80-88.
- [36] ZHANG Y H, NI J, TANG F P, et al. The Effects of Different Human Disturbance Regimes on Root Fungal Diversity of *Rhododendron Ovatum* in Subtropical Forests of China [J]. Canadian Journal of Forest Research, 2017, 47(5): 659-666.
- [37] 宿晓琳, 李英滨, 杨波, 等. 植物多样性组成对亚热带森林土壤微生物群落的影响 [J]. 生态学杂志, 2018, 37(8): 2254-2261.
- [38] EISENHAEUER N. Plant Diversity Effects on Soil Microorganisms: Spatial and Temporal Heterogeneity of Plant Inputs Increase Soil Biodiversity [J]. Pedobiologia, 2016, 59(4): 175-177.
- [39] VAN DER HEIJDEN M G A, KLIRONOMOS J N, URSIC M, et al. Mycorrhizal Fungal Diversity Determines Plant Biodiversity, Ecosystem Variability and Productivity [J]. Nature, 1998, 396(6706): 69-72.
- [40] MELLADO-VÁZQUEZ P G, LANGE M, BACHMANN D, et al. Plant Diversity Generates Enhanced Soil Microbial Access to Recently Photosynthesized Carbon in the Rhizosphere [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 94: 122-132.

- [41] 张金屯. 数量生态学 [M]. 北京: 科学出版社, 2011.
- [42] 何苑峰, 周国英, 王圣洁, 等. 杉木人工林土壤真菌遗传多样性 [J]. 生态学报, 2014, 34(10): 2725-2736.
- [43] DICKIE I A, MARTÍNEZ-GARCÍA L B, KOELE N, et al. Mycorrhizas and Mycorrhizal Fungal Communities Throughout Ecosystem Development [J]. Plant and Soil, 2013, 367(1-2): 11-39.
- [44] SHI L L, MORTIMER P E, FERRY SLIK J W, et al. Variation in Forest Soil Fungal Diversity along a Latitudinal Gradient [J]. Fungal Diversity, 2014, 64(1): 305-315.
- [45] 郭伟, 耿珍珍, 陈朝, 等. 模拟氮沉降增加对长白山红松和水曲柳菌根真菌群落结构及多样性的影响 [J]. 环境学报, 2018, 27(1): 10-17.
- [46] 周田田, 丁榕, 蔡建超, 等. 杜鹃根际微生物的分离、鉴定及多样性分析 [J]. 上海农业学报, 2017, 33(2): 63-70.

Diversity of Soil Fungi in the Rhizosphere of *Rhododendron simsii* within *Pinus massoniana*-*R. simsii* Communities in Central Guizhou

XIONG Dan¹, OU Jing¹, LI Lin-pan¹,
YANG Shu-ting¹, HE Yue-jun¹, LI Chao-chan²

1. College of Forestry, Guizhou University, Guiyang 550025, China;

2. Key Laboratory of Mountainous Environment of Guizhou, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China

Abstract: Taking the *Pinus massoniana*-*Rhododendron simsii* communities in three areas of WuDang (WD), MengGuan (MG) and LongLi (LL) in Central Guizhou as the research objects, the rhizosphere soil of *R. simsii* was collected for high-throughput sequencing to analyze species diversity. The effects of vegetation α diversity and soil nutrient on fungal communities were analyzed with the principle tative ecology. A total of 505 444 effective sequences were obtained from the rhizosphere soil of *R. simsii*, belonging to 9 phyla, 23 classes, 84 orders, 169 families and 296 genera (3 435 OTU). Among them, LL fungi 9 phyla, 19 classes, 53 orders, 90 families, and 127 genera (495 OTU); WD fungi 8 phyla, 21 classes, 78 orders, 150 families and 246 genera (1 076 OTU); and MG fungi 6 phyla, 17 classes, 55 orders, 99 families and 129 genera (522 OTU). Alpha diversity analysis showed that the Chao1, ACE and Shannon indices were all in the order of WD>MG and LL. The community structure of the flora was affected by the diversity of habitat plants and soil nutrients, and fungi diversity was consistent with plant diversity. Soil organic matter (C), pH, available phosphorus (AP), available nitrogen (AN), and total nitrogen (TN) largely explain the response mechanism of the distribution of fungi species to the changes of soil nutrient.

Key words: *Pinus massoniana*-*Rhododendron simsii* community; rhizosphere; soil fungal diversity; high throughput sequencing

责任编辑 王新娟

