

研究报告



基于高通量测序的闽楠幼林根际土壤丛枝菌根真菌群落变化

王丽艳* 周晨 刘光正 狄岚 杨桦 骆昱春

江西省林业科学院 江西 南昌 330013

摘要:【背景】闽楠是珍贵用材树种。阐明闽楠根际土壤微生物特征,对科学经营闽楠人工林有指导作用。【目的】明确闽楠人工林恢复过程中根际土壤丛枝菌根群落随林龄的变化特征。【方法】采用高通量 Illumina MiSeq 测序的方法,评估不同林龄闽楠幼林根际土壤丛枝菌根真菌(Arbuscular Mycorrhiza Fungi, AMF)群落的多样性和组成,揭示造林后闽楠根际土壤真菌群落对时间序列中土壤养分变化的响应特征。【结果】从3个林龄闽楠根际土壤中共得到342 555条有效序列,共得到253个AMF-OTU,分属于1门1纲5目9科14属。 α 多样性指数表明,丛枝菌根真菌群落的Chao1、Shannon指数随着林龄的增加而增加,但不同林龄间差异不显著。 β 多样性指数表明,在闽楠幼龄阶段,不同林龄间AMF群落组成差异明显。根据Bray-Curtis相异度分析阐明AMF群落组成的相似性与林龄相关。种水平物种丰度与土壤因子的相关性分析表明,影响AMF群落丰度的主要土壤因子是pH、全钾、硝态氮和铵态氮。铵态氮与优势AMF分子虚拟种 *Glomus-Franke-A1-VTX00076*、*Glomus-Franke-A1-VTX00269*的丰度呈显著正相关。【结论】随着林龄的增加,闽楠幼龄根际土壤丛枝菌根真菌的种类组成发生了显著变化,影响AMF特性的主要土壤因子是pH、全钾、硝态氮和铵态氮。这些发现将有助于揭示闽楠幼林生态系统和土壤微生物多样性的相互关系和机制,为生物多样性-生态系统功能实验提供理论依据。

关键词: 闽楠, 高通量测序, 丛枝菌根群落, 多样性, 土壤养分

Variation of arbuscular mycorrhiza fungal communities in the rhizosphere soil of *Phoebe bournei* (Hemsl.) Yang plantations based on high-throughput sequencing analysis

WANG Liyan* ZHOU Chen LIU Guangzheng DI Lan YANG Hua LUO Yuchun

Jiangxi Academy of Forestry, Nanchang, Jiangxi 330013, China

Abstract: [Background] *Phoebe bournei* (Hemsl.) Yang is a precious timber species. Clarifying the characteristics of rhizosphere soil microorganism of *P. bournei* is helpful for scientific management of

Foundation items: National Key Research and Development Program of China (2017YFC505500); Key Research and Development Program of Jiangxi Province (20181BBF60012); Special Project on Forestry Science and Technology Innovation of Jiangxi Province (201707)

*Corresponding author: Tel: 86-791-83833460; E-mail: wangliyan052@163.com

Received: 23-07-2020; **Accepted:** 22-08-2020; **Published online:** 06-11-2020

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC505500); 江西省重点研发计划(20181BBF60012); 江西省林业科技创新专项(201707)

*通信作者: Tel: 0791-83833460; E-mail: wangliyan052@163.com

收稿日期: 2020-07-23; **接受日期:** 2020-08-22; **网络首发日期:** 2020-11-06

P. bournei plantations. **[Objective]** To understand the changes of arbuscular mycorrhiza community in rhizosphere soil of *P. bournei* (Hemsl.) Yang plantation with forest age after the afforestation. **[Methods]** The diversity and composition of arbuscular mycorrhiza fungal communities in the rhizosphere soil of *P. bournei* plantations at different ages were evaluated by high-throughput Illumina MiSeq sequencing. Then, we analyzed response characteristics of soil fungal communities in the rhizosphere soil of *P. bournei* plantations to changing soil nutrient after afforestation. **[Results]** In total, 342 555 effective sequences and 253 AMF-OTUs were obtained from the rhizosphere soils of 3 forest ages of *P. bournei*, belonging to 14 genus, 9 families, 5 orders, 1 class, 1 phylum. In terms of alpha diversities, both Chao1 and Shannon indices of AMF community increased with the plantation age of *P. bournei*, but there was no significant difference among different plantation ages. There was significant difference of β diversity in arbuscular mycorrhiza fungal community composition among different plantation ages. According to the Bray-Curtis dissimilarity analysis, the similarity of AMF community composition was related to plantation ages. The Spearman correlation analysis between species richness and soil factors indicated that the majority soil factors affecting the abundance of arbuscular mycorrhiza fungal communities were pH, total potassium (K), nitrate nitrogen (NO_3^- -N) and ammonium nitrogen (NH_4^+ -N). Ammonium was significantly correlated with the abundance of dominant arbuscular mycorrhiza fungal molecular virtual species *Glomus*-Franke-A1-VTX00076 and *Glomus*-Franke-A1-VTX00269. **[Conclusion]** Our findings reveal the relationship between soil microbial diversity and the ecosystem of *Phoebe bournei* (Hemsl.) Yang plantations and provide reference for understanding the relationships between biodiversity and ecosystem functions.

Keywords: *Phoebe bournei*, high-throughput sequencing, AMF community, diversity, soil nutrient

造林是改善生态环境、提高生产力和土壤养分的有效措施^[1]。植物群落与土壤微生物群落之间的反馈是紧密联系在一起的,它们对生态系统过程的调节有着根本性的影响^[2]。土壤真菌对土地利用和优势植被的变化比细菌更敏感,因为它们作为菌根共生体,对森林中的植物生产力和养分循环产生重大影响^[3-4]。土壤真菌群落高度依赖于植物及其与植物的生物营养相互作用,因为它们大多是寄生植物、互利共生者或病原体^[5]。丛枝菌根真菌(Arbuscular Mycorrhiza Fungi, AMF)隶属于球囊菌门,是最古老和最常见的类型^[6],普遍存在于土壤环境中,能够与 80%以上的陆生植物形成共生体系,对生物多样性和维持生态系统稳定具有重要作用^[7]。越来越多的研究表明,AMF 在维持植物和土壤健康方面的多功能作用^[8],以及维持植物多样性和群落结构方面的生态重要性引发了研究者的兴趣,以确定这些重要土壤微生物群在生态系统中的丰度和分布。为了了解菌根对植物发育的影响及其对植物群落生态的影响,即植物对环境的适应、

植物在空间的分布、生存策略、共生关系等,评估根际 AMF 群落的组成十分重要^[9]。因此,了解土壤真菌群落的动态变化和土壤理化性质的关系,对评价人工林土壤养分状况,促进人工林的可持续发展具有重要意义。

闽楠[*Phoebe bournei* (Hemsl.) Yang]是我国特有的二级珍稀濒危保护植物,主要分布在浙江、福建、江西、广东、贵州等海拔 200 m–1 000 m 的常绿阔叶林中,也是我国南方集体林区重点发展的珍贵用材林树种。目前对闽楠的研究主要集中在育苗造林技术^[10]、遗传改良^[11-12]、生理生态^[13-14]等方面。针对闽楠人工林恢复过程中林地土壤真菌群落的形成过程、土壤性质与土壤微生物的相互作用尚没有统一的研究。在本研究中,针对不同林龄闽楠幼林,应用高通量基因测序技术对根际土壤丛枝菌根真菌群落进行了研究,探讨造林后根际土壤真菌群落组成和多样性的动态变化,明确土壤真菌群落对时间序列中土壤养分变化的响应,以为闽楠人工林植被恢复和可持续经营提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验样地选址于江西省吉安市永丰官山林场, 该林场经营面积 10 050 hm²。地处中国亚热带温暖湿润季风气候区, 年均温约 16.3–19.5 °C, 日均温超过 10 °C 的持续期为 240–270 d, 无霜期长达 240–307 d, 降雨充沛。样地地理坐标为东经 115°15'55"–115°27'05", 北纬 27°16'17"–27°16'26"。不同林龄闽楠人工林样地基本情况见表 1。闽楠林龄 5 年人工林(处理 a1)平均树高 1.49 m, 地径 2.96 cm、林龄 9 年 (处理 a2)平均树高 5.10 m, 胸径 8.28 cm、林龄 12 年 (处理 3)平均树高 5.37 m, 胸径 11.34 cm。闽楠林龄 5 年人工林、林龄 9 年、林龄 12 年林分平均密度分别是 1 442.39、1 208.94、1 092.21 株/hm²。

1.2 土壤样品的采集

2019 年 10 月, 在永丰官山林场设置闽楠林龄 5、9、12 年的样地, 采集闽楠根际土壤方法参考文献[15]的“抖落法”, 在每个样方内沿“S”型路径分别选择 10 株胸径和树高接近的闽楠, 去除其落叶层并挖开上层覆土, 剪下细根分枝并轻轻抖动, 根际土壤为

黏在细根上的土壤, 用小毛刷将黏在细根上的土壤收集到自封袋中。将每个样方内取得的 10 份根际土混匀为一份土样, 共获得 150 份土样样品。土壤通过 2 mm 筛选后, 其中一份保存于–80 °C 冰箱, 另一部分土样 4 °C 冰箱保存用于测定 AMF 多样性。

1.3 土壤样品测序

土壤样品委托上海美吉生物医药科技有限公司构建测序文库, 根据相似度将序列聚类为操作分类单元(OTU), 使用 RDP 分类器对序列进行系统分类, 凭借 OTU 数据对 AMF 进行 α 多样性和 β 多样性分析^[16]。

1.4 数据统计分析

利用 R 语言主坐标分析(Principal Co-Ordinates Analysis, PCoA)软件包分析样本群落组成的相似性或差异性。Vegan 软件包采用非度量多维尺度法(Nonmetric Multi-Dimensional Scaling, NMDS)和 Bray-Curtis 距离算法, 进行降维分析以解析群落结构^[17]。运用软件 QIIME 计算 β 多样性距离矩阵。相关性 Heatmap 分析通过计算土壤养分与所选物种之间的相关系数, 用 R 语言 Pheatmap Package 软件包进行分析作图。

表 1 不同林龄林闽楠人工林样地概况

Table 1 The basic conditions of the sample plots of *Phoebe bournei* (Hemsl.) Yang plantations of different forest ages

| 处理 Treatment | 林龄 Forest age (a) | 样地编号 Plots No. | 经度 Longitude | 纬度 Latitude | 高程 Elevation (m) | 地径/胸径 Diameter at base/DBH* (cm) | 树高 Height (m) | 密度 Plantation density (strains/hm ²) |
|-----------------|----------------------|-------------------|-----------------|----------------|---------------------|-------------------------------------|------------------|---|
| a1 | 5 | 1# | 115°27'05"E | 27°16'24"N | 106.067 | 3.23 | 1.68 | 1 425.71 |
| | | 2# | 115°27'05"E | 27°16'23"N | 107.984 | 2.88 | 1.42 | 1 400.70 |
| | | 3# | 115°27'04"E | 27°16'22"N | 109.508 | 2.76 | 1.38 | 1 500.75 |
| a2 | 9 | 4# | 115°27'00"E | 27°16'26"N | 99.696 | 7.84 | 5.00 | 1 225.61 |
| | | 5# | 115°27'00"E | 27°16'25"N | 99.613 | 8.29 | 5.10 | 1 175.59 |
| | | 6# | 115°27'01"E | 27°16'24"N | 101.332 | 8.72 | 5.20 | 1 225.61 |
| a3 | 12 | 7# | 115°26'55"E | 27°16'20"N | 97.857 | 11.88 | 5.20 | 1 075.54 |
| | | 8# | 115°26'55"E | 27°16'20"N | 98.218 | 11.52 | 5.50 | 1 125.56 |
| | | 9# | 115°26'58"E | 27°16'17"N | 107.031 | 10.61 | 5.40 | 1 075.54 |

注: *: 5 年林龄处理 a1 中, 闽楠测量为地径, a2、a3 处理测量为胸径

Note: *: In the 5-year-old treatment a1, *Phoebe bournei* (Hemsl.) Yang plantations were measured as ground diameter, while a2 and a3 treatments were measured as DBH

2 结果与分析

2.1 不同林龄闽楠人工林根际 AMF 群落 OTU 组成及结构

通过 Illumina MiSeq 测序平台, 稀释曲线可以直接反映所抽取的优化测序深度是否合理, 并直接反映样品中的物种丰度。由图 1 可知, 抽取的序列条数达到 22 000 条以上, 曲线趋于平坦, 表明不同处理的土样样本测序数量足够, 测序数据合理^[18]。本研究从 3 种不同林龄闽楠人工林根际土壤中共得到 342 555 条有效序列, 平均每个样品中的有效序列为 22 837 条。

Venn 图可以直观地体现不同林龄闽楠根际土壤 AMF 群落 OTU 组成的差异及共有物种的情况。韦恩图分析表明(图 2), 在 OTU 水平上, a1 中特异性 AMF 群落 OTU 占总 OTU 序列数的 35.88% (89)、a2 中特异性 AMF 群落 OTU 占 3.6%, a3 中特异性 AMF 群落 OTU 占 6.45%。此外, a1 与 a2 共有的 OTU 数量为 22 (8.87%), a2 与 a3 共有的 OTU 数量为 41 (16.53%), a1 与 a3 共有的 OTU 数量为 17 (6.85%), a1、a2 和 a3 共有的 OTU 数量为 54 (21.77%)。

2.2 不同林龄闽楠人工林根际 AMF 群落结构及多样性

在 97%序列相似水平上计算的丰富度(Chao1)指数和多样性(Shannon)指数代表了闽楠人工林根际土壤 AMF 群落的多样性。由表 2 可知, 丰富度

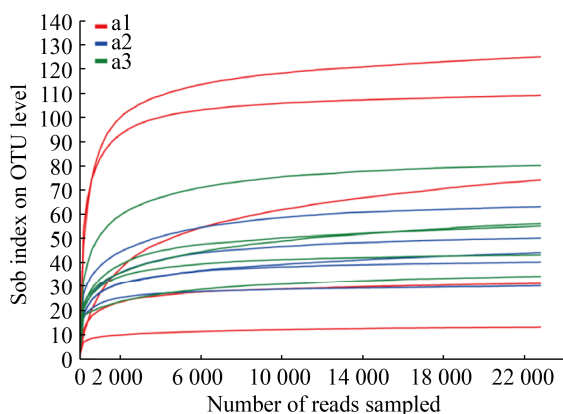


图 1 不同林龄闽楠根际土壤 AMF 群落的稀释曲线
Figure 1 Rarefaction curves of AMF communities in rhizosphere soils of *P. bournei* plantations of different forest ages

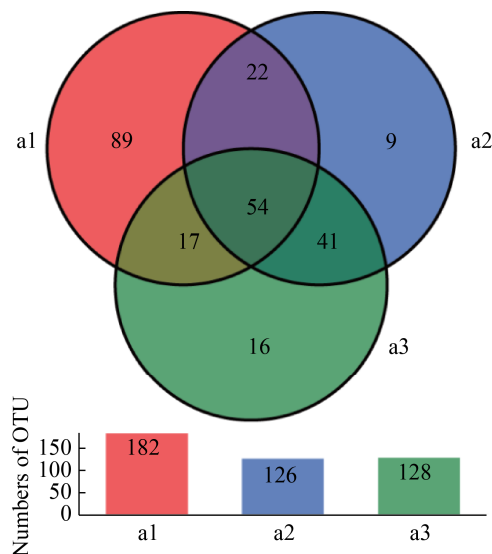


图 2 基于属水平丰度的闽楠根际土壤 AMF 群落韦恩图
Figure 2 Venns of AMF communities in rhizosphere soils of *Phoebe bournei* (Hemsl.) Yang plantation on genus level

表 2 不同林龄闽楠根际土壤 AMF 群落 α 多样性指数
Table 2 Alpha diversity index of AMF communities in rhizosphere soils of *P. bournei* plantations of different forest ages

| 多样性指数 Diversity index | 处理 Treatment | | |
|---------------------------------------|---------------|---------------|---------------|
| | a1 | a2 | a3 |
| Sob 指数 Sob index | 70±48.30a | 44±11.65a | 52±17.13a |
| ACE 指数 ACE index | 74.27±49.89a | 47.51±12.26a | 56.64±17.96a |
| Chao1 指数 Chao1 index | 46.3±11.38a | 48.8±15.17a | 55.14±17.32a |
| 香农指数 Shannon index | 2.066±1.38a | 2.427±0.35a | 2.652±0.18a |
| 辛普森指数 Simpson index | 0.322 2±0.34a | 0.141 9±0.06a | 0.098 5±0.01a |
| Shannoneven 指数 Shannoneven index | 0.51±0.27a | 0.64±0.05a | 0.68±0.03a |
| Simpsonseven 指数 Simpsonseven index | 0.145±0.10a | 0.178±0.04a | 0.212±0.07a |
| Pd 指数 Pd index | 4.41±3.16a | 2.53±0.360a | 3.01±0.59a |

注: 表中数值为平均值±标准误。相同字母 a 表明处理间差异不显著($P>0.05$)

Note: Values are means±standard error. The same letter "a" indicated that there was no significant difference among treatments ($P>0.05$)

(Chao1)指数和多样性(Shannon)指数随着林龄的增加而增加, Chao1 指数是 46.3 (a1)<48.8 (a2)<55.14 (a3), Shannon 指数是 2.066 (a1)<2.427 (a2)<2.652 (a3), 群落均一性 Simpsoneven 指数也呈现增加的趋势。方差分析表明, 不同林龄闽楠幼林间 α 多样性指数差异不显著($P>0.05$)。

从图 3 可知, 随着闽楠人工幼林林龄的增加, 根际土壤丛枝菌根真菌物种丰度增多, 分别为: 优势物种 *Unclassified_o_Archaeosporales* 属 10.86% (a3)>4.92% (a2)>0% (a1); 无梗囊霉属 (*Acaulospora*) 5.02%>1.46%>0.725%; *Unclassified_f_Archaeosporaceae* 属 5.328%>1.78%>0%; 类球囊霉属 (*Paraglomus*) 2.965%>0.4136%>0%; 双型囊霉属 (*Ambispora*) 2.72%>0.38%>0%。

比对 NCBI 数据库测序序列, 本研究总共得到 253 个 AMF-OTUs, 分属于 1 门 1 纲 5 目 9 科 14 属 59 种。三元相图(图 4)显示, OTU 数目占总 OTU 数目的比例分别为: 球囊霉属(*Glomus_f_Glomeraceae*)占 79.9%, 其中 a1、a2、a3 样本组贡献度分别为 37.2%、32.8%和 30.0%。*Unclassified_o_Archaeosporales* 属占 27%, 其中 a1、a2、a3 样本组贡献度分别为 0.261%、31.0%和 68.7%。*Unclassified_f_Archaeosporaceae* 属占 2.37%, 其中

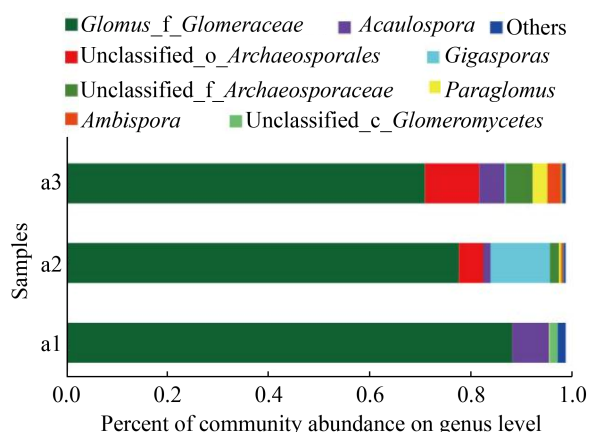


图3 属水平不同林龄闽楠根际土壤 AMF 群落相对丰度
Figure 3 Percent of AMF community abundance in rhizosphere soils of *P. bournei* plantations of different ages on genus level

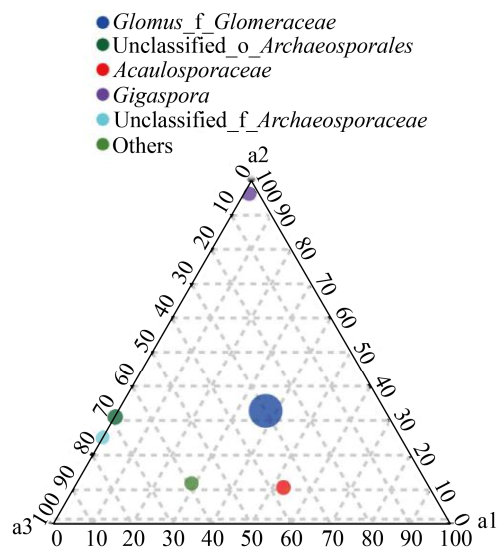


图4 基于不同林龄闽楠根际土壤 AMF 属水平三元相图
Figure 4 Ternary analysis of AMF community in rhizosphere soils of *P. bournei* plantations of different ages on genus level

a1、a2、a3 样本组贡献度分别为 0.061 6%、25.1% 和 74.9%。无梗囊霉属(*Acaulospora*)占 4.58%, 其中 a1、a2、a3 样本组贡献度分别为 52.8%、10.6% 和 36.6%。巨孢囊霉属(*Gigaspora*)占 4.12%, 其中 a1、a2、a3 样本组贡献度分别为 1.36%、96.2%和 2.42%。其他属(Others)占 3.72%, 其中 a1、a2、a3 样本组贡献度分别为 29.0%、11.8%和 59.1%。

随着闽楠幼林林龄的增加(表 3), 盾巨孢囊霉属 (*Scutellospora*)、*Unclassified_f_Diversisporaceae*、*Unclassified_f_Archaeosporaceae* 这 3 属的丰度对林龄的增长响应明显($P<0.05$)。

2.3 不同闽楠幼林根际土壤 AMF 群落 PCoA 分析与样本聚类分析

β 多样性分析通过对不同林龄闽楠根际土壤 AMF 群落的物种多样性进行组间比较分析, 探索不同分组样本间群落组成的相似性或差异性。基于种(Species)水平和 OTU 水平的不同林龄闽楠幼林根际土壤 AMF 群落主坐标分析(图 5、图 6), 结果发现: 在种水平, 主成分 1 (PC1)与主成分 2 (PC2)解释方差分别为 31.92%和 18.36%, 累计解释能力达 32.96%; 在 OTU 水平分析得知, PC1 解释

表 3 不同林龄闽楠幼林根际土壤 AMF 相对丰度组间差异检验
Table 3 Intergroup difference test of the abundance of AMF in the rhizosphere soil of *Phoebe bournei* (Hemsl.) Yang plantations

| 属名 Genus name | a1 均值 a1-mean (%) | a1 标准差 a1-SD (%) | a2 均值 a2-mean (%) | a2 标准差 a2-SD (%) | a3 均值 a3-mean (%) | a3 标准差 a3-SD (%) | P 值 P value |
|----------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------|
| 球囊霉属 <i>Glomus_f_Glomeraceae</i> | 89.290 | 14.880 | 78.650 | 11.230 | 71.890 | 8.754 | 0.075 0 |
| Unclassified_o_Archaeosporales | 0.041 | 0.078 | 4.902 | 6.657 | 10.860 | 7.656 | 0.106 2 |
| 无梗囊霉属 <i>Acaulospora</i> | 7.254 | 15.820 | 1.463 | 2.123 | 5.027 | 9.038 | 0.640 2 |
| 巨孢囊霉属 <i>Gigaspora</i> | 0.167 | 0.339 | 11.880 | 11.390 | 0.299 | 0.472 | 0.125 9 |
| Unclassified_f_Archaeosporaceae | 0.004 | 0.008 | 1.783 | 2.318 | 5.328 | 6.752 | 0.034 7 |
| 类球囊霉属 <i>Paraglomus</i> | 0.143 | 0.253 | 0.414 | 0.785 | 2.966 | 6.109 | 0.681 3 |
| 双型囊霉属 <i>Ambispora</i> | 0.005 | 0.012 | 0.380 | 0.741 | 2.724 | 6.091 | 0.707 6 |
| Unclassified_c_Glomeromycetes | 1.539 | 2.217 | 0.147 | 0.190 | 0.288 | 0.474 | 0.286 6 |
| 囊盖孢属 <i>Diversispora</i> | 0.762 | 1.314 | 0.031 | 0.069 | 0.042 | 0.094 | 0.187 6 |
| Unclassified_f_Gigasporaceae | 0.014 | 0.031 | 0.196 | 0.276 | 0.283 | 0.633 | 0.192 9 |
| 原囊霉属 <i>Archaeospora</i> | 0.005 | 0.010 | 0.152 | 0.339 | 0.295 | 0.385 | 0.380 1 |
| 盾孢囊霉属 <i>Scutellospora</i> | 0.435 | 0.744 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.031 8 |
| Unclassified_f_Diversisporaceae | 0.265 | 0.546 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.031 8 |
| G_norank | 0.075 | 0.167 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.367 9 |

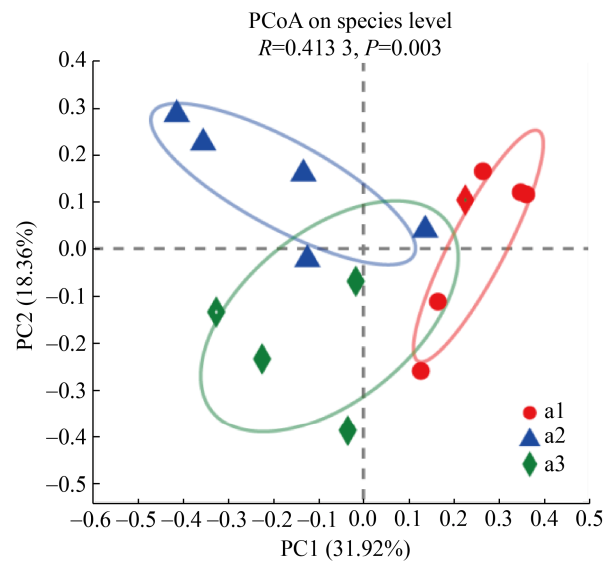


图 5 基于种水平闽楠根际土壤 AMF 群落在种水平聚类分析
Figure 5 PCoA cluster analysis of AMF communities in rhizosphere soils of *P. bournei* plantations on species level

方差为 18.96%，PC2 解释方差 13.80%，累计解释能力达 32.96%。说明本研究中影响根际土壤 AMF 群落结构的主导因子明显($P<0.05$), 3 个林龄闽楠根际土壤 5 个重复比较聚集,不同林龄之间分化明显。

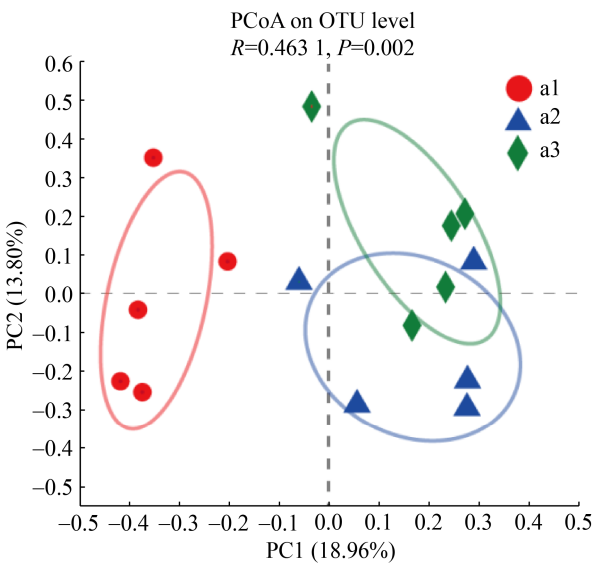


图 6 基于 OUT 水平闽楠 AMF 群落在物种水平 PCoA 聚类分析
Figure 6 PCoA cluster analysis of AMF communities in rhizosphere soils of *P. bournei* plantations on OTU level

非度量多维尺度分析 (Non-Metric Multidimensional Scaling, NMDS)能够从高维数据中提取出最大程度反映样品间差异的主成分,揭示复杂背景下的简单规律,利用 Bray-Curtis 计算距

离矩阵的算法, 从物种水平和 OTU 水平进行 NMDS 分析, 图 7、图 8 结果表明不同林龄闽楠幼龄根际土壤样本组间存在差异($\text{Stress} < 0.2$)。PCoA 与 NMDS 分析共同验证了在闽楠幼龄阶段, 不同

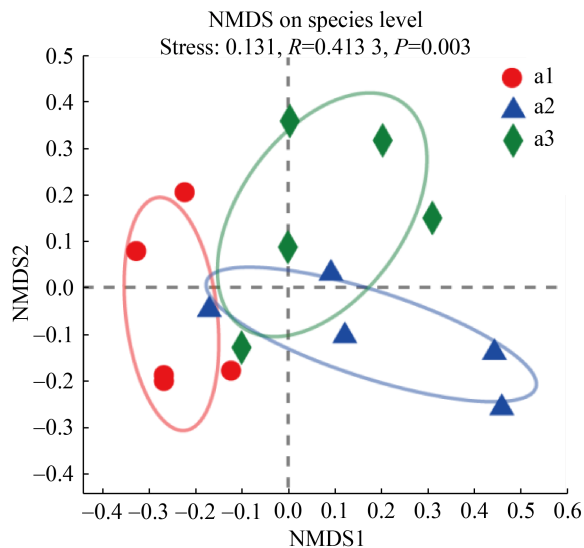


图 7 基于种水平的闽楠根际土壤 AMF 群落非度量多维尺度法降维分析

Figure 7 NMDS of AMF communities in rhizosphere of *P. bournei* plantations on species level

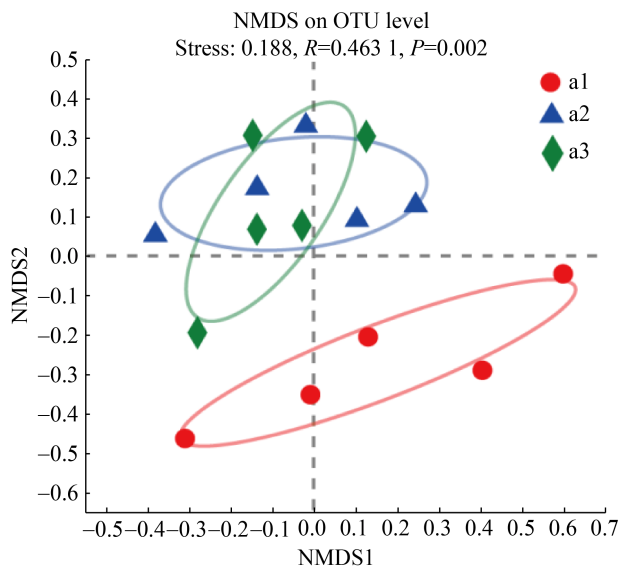


图 8 基于 OTU 水平的闽楠根际土壤 AMF 群落非度量多维尺度法降维分析

Figure 8 NMDS of AMF communities in rhizosphere of *P. bournei* plantations on OTU level

林龄间闽楠根际土壤 AMF 群落组成差异明显。

在闽楠幼龄阶段, 不同林龄间闽楠根际土壤 AMF 群落组成差异明显。应用 Bray-Curtis 距离算法, 对样本距离矩阵进行层级聚类(Hierarchical Clustering)分析(图 9), 可以清楚地看出样本分支的距离远近, 根据不同的距离阈值可将样本划分为凝聚的小组。从层级聚类分析结果可知, A1 (5 年闽楠林)根际土壤样本组聚集为一个群体, A3 (12 年闽楠林)样本主聚集为一个群体, 说明 A2 (9 年闽楠林)样本组与 A1 和 A3 样本组在物种组成丰度上有较大差异。根据样本之间的 Bray-Curtis 距离, AMF 群落组成的相似性与林龄相关。

2.4 环境因子相关性分析

相关性热图(图 10)分析表明, pH、铵态氮 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、硝态氮 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和全钾 TK 与 AMF 群落丰度存在相关关系。球囊霉属的物种 *Glomus-Glo-F-VTX00167* ($r=0.522\ 1$)、*Glomus-mosseae-VTX00067* ($r=0.524\ 1$)、*Glomus-group-B-Glomus-lamellosu-VTX00193* ($r=0.518\ 9$)与 pH 呈正显著相关, 而 *Glomus-Franke-A-VTX00211* 与 pH 呈显著负相关关系($r=-0.622\ 5$)。与碱解氮 AN 存在显著正相关的物种是 *Glomus-PSAMG2-VTX00080* ($r=0.586\ 6$)。铵态氮与优势种 *Glomus-Franke-A1-VTX00076* ($r=0.658\ 1$)、*Glomus-Franke-A1-VTX00269* ($r=0.542\ 2$)的丰度呈显著正相关, 与 *Glomus-Yamato2005-D-VTX00084* 的丰度呈负相关关系 ($r=-0.535\ 9$)。 *Glomus-group-B-Glomus-lamellosu-VTX00193* ($r=-0.694\ 4$)、*Glomus-mosseae-VTX00067* ($r=-0.684\ 2$)丰度与硝态氮 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 呈极显著负相关。 *Glomus-Glo-F-VTX00167*、*Glomus-viscosum-VTX00063*、*Glomus-group-B-Glomus-lamellosu-VTX00193*、*Glomus-mosseae-VTX00067*、*Glomus-sp.-VTX00304*、*Unclassified_g_Diversispora*、*Glomus-MO-G23-VTX00222*、*Glomus-MO-G22-VTX00125* 物种的丰度与全钾呈负相关关系, 而 *Unclassified_f_Archaeosporaceae* 与全钾呈正相关 ($r=0.541\ 9$)。

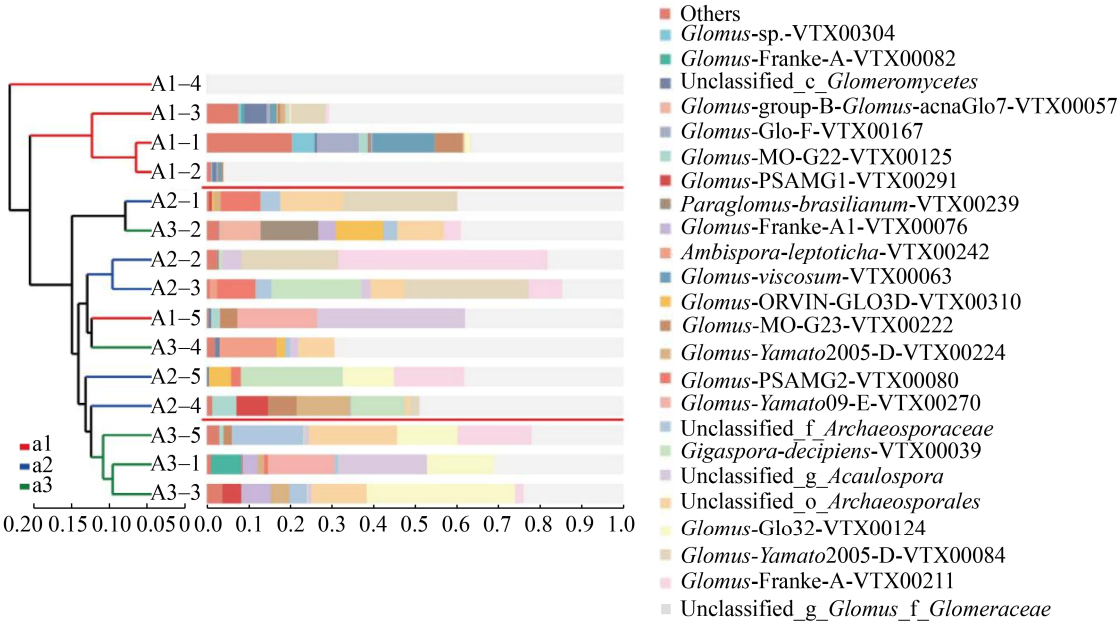


图 9 种水平的闽楠根际土壤样本距离矩阵进行层级聚类
Figure 9 Hierarchical clustering tree of rhizosphere soil sample of *P. bournei* plantations on species level

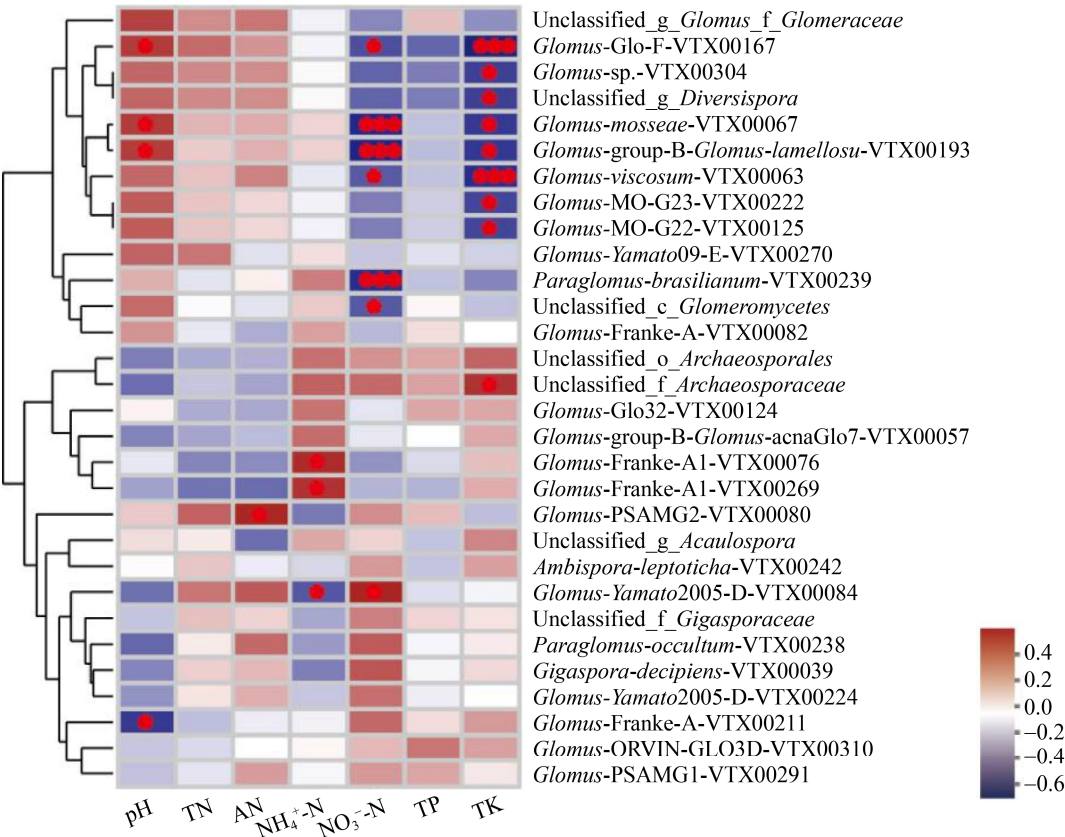


图 10 基于种水平 AMF 群落物种丰度与环境因子的相关性热图
Figure 10 Spearman correlation heatmap analysis of the correlation between species abundance of AMF communities in rhizosphere of *P. bournei* plantations on species level and environmental factors

3 讨论

3.1 不同林龄闽楠幼林与根际土壤 AMF 群落结构的变化

植物和土壤生物发生作用的主要媒介是根际。植物与土壤界面上发生复杂的反馈过程, 土壤真菌通过与植物根系的耦合, 在土壤中形成一个密集的地下菌丝桥网络, 从而促进植物水分和养分吸收^[19]。AM 真菌不仅有助于其寄主植物吸收磷、硝酸盐、铵和有机氮, 而且还将氮转移到植物中, 促进 AMF 侵染植物的生长, 并提高其质量和产量^[20]。土壤微生物在土壤肥力保持^[21]、有机物降解、氮固定和植物营养方面具有重要作用^[22]。

林龄不同对微生物可能产生较大的影响, 主要是林中温度、凋落物的厚度以及现存量存在差异而造成^[23]。本研究通过分析不同林龄闽楠幼林 AMF 多样性和群落结构的差异, 间接了解随着林龄的增长闽楠根际土壤 AMF 群落的变化。本研究结果显示, 随着林龄的增加, 闽楠幼林根际土壤 AMF 多样性增加, 物种种类随之丰富。这与李娇等^[24]对不同林龄云杉人工林的根系分泌物与土壤微生物的研究结论相类似。土壤微生物被视为陆地生态系统生产力多样性的驱动力^[25]。微生物群落对土壤质量非常敏感, 时间序列研究对于优化植被生长过程非常重要^[26-27]。植被恢复与林分生长增加植物凋落物和根系分泌物, 为微生物提供基质, 增加微生物丰度^[28-30]。

从根际 AMF 聚类分析的结果来看, 3 个闽楠林龄级发生明显分化。AMF 群落的相似性与林龄相关, 林龄影响土壤 AMF 群落组成。Dang 等^[1]研究发现, 黄土高原不同林龄油松林土壤真菌群落多样性不受林龄的影响, 但丰富度指数受林龄影响明显。人工林立地丰富度指数在 15 年后急剧下降, 可能是由于林下植物的变化与土壤真菌群落丰富度指数有显著相关性^[1]。先前的研究还表明, 由于

环境因素(即光、水和其他土壤非生物因素)和植被的变化, 可以根据森林的发展阶段来区分早期真菌和晚期真菌^[31]。总而言之, 广泛的分类反映了真菌群落的生理和营养特性对环境的响应。

3.2 根际土壤 AMF 群落结构和多样性的影响因素

土地利用及耕作方式不同影响地下微生物的变化^[15]。土壤理化性质等非生物因素对 AMF 群落的组成有重要影响^[32]。根际碳/氮沉积能够显著影响根际微生物群落的密度、生物量与多样性。已有研究表明土壤理化因子(如 pH、土壤氮、磷等)对 AMF 群落结构有重要影响^[1,10,16-18]。本研究证实了土壤 pH、钾、硝态氮是 AMF 多样性和群落结构的重要驱动因子。

高水平的土壤有机质为微生物代谢和合成提供能量来源^[33], 土壤速效磷和无机形态氮(铵态氮和硝态氮)是微生物生长繁衍所需营养物质^[34]。AMF 群落的变化既与寄主植物种类有关, 也与土壤因素有关。土壤因子对 AMF 多样性有显著影响^[35]。王悦等^[36]研究不同种植模式下丹参根际土壤微生物群落结构变化的结果表明, 土壤钾可以提高真菌群落的多样性。这与本研究钾是 AMF 群落结构驱动因子相一致, 说明闽楠根际微环境更适合喜钾微生物的生长。

本研究表明, 铵态氮与优势 AMF 分子虚拟种 *Glomus*-Franke-A1-VTX00076、*Glomus*-Franke-A1-VTX00269 的丰度呈显著正相关, 证实了球囊霉属 *Glomus* 在该地区的绝对优势。王永明等对中国区已报道的 AMF 种类进行了归纳总结, 发现在中国境内 AMF 虚拟种有 145 个, 隶属于 8 科 12 属, 优势属 *Glomus* 其下属虚拟物种占 71%^[37]。已有研究^[38]发现桑树根系和土壤 AM 真菌群落均以 *Glomus* 为优势属, 样品中出现了 VTX00067 分子种, 被认定为 *G. mosseae*, 能促进桑树吸收利用水分。本研究中也发现 VTX00067 分子种, 为下一步的接种研究奠定了基础。

根系分泌物和凋落物是影响植物选择 AMF 的重要因素。今后应进一步研究林下植物与根际微生物的关系, 包括 AMF 群落组成和相互作用机制。本研究的结果仅基于一次取样, 而且是 3 个林龄段的变化, 今后应开展闽楠中龄林、成熟林根际土壤微生物群落结构的动态监测, 这对于揭示林龄与土壤微生物变化规律、进一步提出营林策略具有重要意义。

4 结论

在闽楠幼林根际土壤中共鉴定出 9 科 14 属 59 种 AMF。随着林龄的增加, 闽楠幼龄根际土壤丛枝菌根真菌的种类组成发生了显著变化, 影响 AMF 特性的主要土壤因子是 pH、全钾、硝态氮和铵态氮。这些发现将有助于揭示闽楠幼林生态系统和土壤微生物多样性的相互关系及机制, 为生物多样性-生态系统功能实验提供理论依据。

REFERENCES

- [1] Dang P, Vu NH, Shen Z, Liu JL, Zhao F, Zhu HL, Yu X, Zhao Z. Changes in soil fungal communities and vegetation following afforestation with *Pinus tabulaeformis* on the Loess Plateau[J]. *Ecosphere*, 2018, 9(8): e02401
- [2] Wardle DA, Bardgett RD, Klironomos JN, Setälä H, Van Der Putten WH, Wall DH. Ecological linkages between aboveground and belowground biota[J]. *Science*, 2004, 304(5677): 1629-1633
- [3] Urbanová M, Šnajdr J, Baldrian P. Composition of fungal and bacterial communities in forest litter and soil is largely determined by dominant trees[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 84: 53-64
- [4] Luo D, Cheng RM, Shi ZM, Wang WX. Decomposition of leaves and fine roots in three subtropical plantations in China affected by litter substrate quality and soil microbial community[J]. *Forests*, 2017, 8(11): 412
- [5] Prober SM, Leff JW, Bates ST, Borer ET, Firn J, Harpole WS, Lind EM, Seabloom EW, Adler PB, Bakker JD, et al. Plant diversity predicts beta but not alpha diversity of soil microbes across grasslands worldwide[J]. *Ecology Letters*, 2015, 18(1): 85-95
- [6] Parniske M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(10): 763-775
- [7] Stutz JC, Copeman R, Martin CA, Morton JB. Patterns of species composition and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in arid regions of southwestern North America and Namibia, Africa[J]. *Canadian Journal of Botany*, 2000, 78(2): 237-245
- [8] Sharmah D, Jha DK. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in undisturbed forest, slash-and-burn field, and monoculture forest of Indo-Burma megadiverse region[J]. *Brazilian Journal of Botany*, 2014, 37(3): 339-351
- [9] Antunes PM, Koch AM, Morton JB, Rillig MC, Klironomos JN. Evidence for functional divergence in arbuscular mycorrhizal fungi from contrasting climatic origins[J]. *New Phytologist*, 2011, 189(2): 507-514
- [10] Wu DR, Wang BS. Seed and seedling ecology of the endangered *Phoebe bournei* (Lauraceae)[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(11): 1751-1760 (in Chinese)
吴大荣, 王伯荪. 濒危树种闽楠种子和幼苗生态学研究[J]. *生态学报*, 2001, 21(11): 1751-1760
- [11] Jiang XM, Xiao FM, Ye JS, Gong B, Liu ZK. Geographic variation and estimation of genetic parameters of seed and growth traits in *Phoebe bournei* provenance at seedling stage[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2008, 30(4): 666-670 (in Chinese)
江香梅, 肖复明, 叶金山, 龚斌, 刘志开. 闽楠种源苗期生长性状地理变异及遗传参数估算[J]. *江西农业大学学报*, 2008, 30(4): 666-670
- [12] Jiang XM, Wen Q, Ye JS, Xiao FM, Jiang M. RAPD analysis on genetic diversity in eight natural populations of *Phoebe bournei* from Fujian and Jiangxi Province, China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(1): 438-444 (in Chinese)
江香梅, 温强, 叶金山, 肖复明, 江梅. 闽楠天然种群遗传多样性的 RAPD 分析[J]. *生态学报*, 2009, 29(1): 438-444
- [13] Liu B, Wu WF, He SQ, Lin SZ, Lin KM. Study on the soil respiration and carbon reserve in different age stands of *Phoebe bournei*[J]. *Journal of Forest and Environment*, 2018, 38(4): 431-438 (in Chinese)
刘宝, 吴文峰, 何盛强, 林思祖, 林开敏. 不同林龄闽楠林土壤呼吸与碳储量研究[J]. *森林与环境学报*, 2018, 38(4): 431-438
- [14] Wang ZX, Zhu JM, Wang J, Wang Y, Lu YX, Zheng QR. The response of photosynthetic characters and biomass allocation of *P. bournei* young trees to different light regimes[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(12): 3841-3848 (in Chinese)
王振兴, 朱锦懋, 王健, 汪滢, 卢钰茜, 郑群瑞. 闽楠幼树光合特性及生物量分配对光环境的响应[J]. *生态学报*, 2012, 32(12): 3841-3848

- [15] Yao XD, Li XG, Ding CF, Han ZM, Wang XX. Microzone distribution characteristics of soil microbial community with peanut cropping system, monocropping or rotation[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2019, 56(4): 975-985 (in Chinese)
姚小东, 李孝刚, 丁昌峰, 韩正敏, 王兴祥. 连作和轮作模式下花生土壤微生物群落不同微域分布特征[J]. *土壤学报*, 2019, 56(4): 975-985
- [16] Zhou LT, Li JJ, Zhao YL, Luo Y, Bai Y, Chen J, Wu ZY, Lin WX. Variation of bacterial communities in the rhizosphere soils of successive rotations *Casuarina equisetifolia* plantations based on high-throughput sequencing analysis[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(8): 2670-2679 (in Chinese)
周柳婷, 李建鹃, 赵艳琳, 罗扬, 白莹, 陈军, 吴则焰, 林文雄. 基于高通量测序的连栽木麻黄根际土壤细菌群落变化研究[J]. *生态学报*, 2020, 40(8): 2670-2679
- [17] Li XJ, Xu TL, Chen BD, Xu LJ, Zhao AH. Diversity and community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in desert and steppe ecosystems[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2017, 36(10): 2734-2743 (in Chinese)
李雪静, 徐天乐, 陈保冬, 徐丽娇, 赵爱花. 荒漠和草原生态系统丛枝菌根真菌多样性和群落结构[J]. *生态学杂志*, 2017, 36(10): 2734-2743
- [18] Jin L, Zhou ML, Wang LL, Liu KZ, Wang LZ. Differences of microbial structure and composition in goat rumens with different energy metabolism efficiency[J]. *Microbiology China*, 2018, 45(1): 91-101 (in Chinese)
金磊, 周美丽, 王禄禄, 刘凯珍, 王立志. 不同能量代谢率的山羊瘤胃微生物结构与组成的差异性[J]. *微生物学通报*, 2018, 45(1): 91-101
- [19] Corrales A, Ovrebo CL. Fungi of the fortuna forest reserve: taxonomy and ecology with emphasis on ectomycorrhizal communities[J]. *Ecology, Environment & Conservation*, 2020(4): 1-29
- [20] Abdelhalim TS, Finckh MR, Babiker AG, Oehl F. Species composition and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in White Nile state, Central Sudan[J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2014, 60(3): 377-391
- [21] Antunes PM, Lehmann A, Hart MM, Baumecker M, Rillig MC. Long-term effects of soil nutrient deficiency on arbuscular mycorrhizal communities[J]. *Functional Ecology*, 2012, 26(2): 532-540
- [22] Zubek S, Chmolewska D, Jamrozek D, Ciechanowska A, Nobis M, Błaszczkowski J, Rożek K, Rutkowska J. Monitoring of fungal root colonisation, arbuscular mycorrhizal fungi diversity and soil microbial processes to assess the success of ecosystem translocation[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 246: 538-546
- [23] Dang P, Yu X, Le H, Liu JL, Shen Z, Zhao Z. Effects of stand age and soil properties on soil bacterial and fungal community composition in Chinese pine plantations on the Loess Plateau[J]. *PLoS One*, 2017, 12(10): e0186501
- [24] Li J, Jiang XM, Yin HJ, Yin CY, Wei YH, Liu Q. Root exudates and soil microbes in three *Picea asperata* plantations with different stand ages[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(2): 325-332 (in Chinese)
李娇, 蒋先敏, 尹华军, 尹春英, 魏宇航, 刘庆. 不同林龄云杉人工林的根系分泌物与土壤微生物[J]. *应用生态学报*, 2014, 25(2): 325-332
- [25] Van Der Heijden MGA, Bardgett RD, Van Straalen NM. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems[J]. *Ecology Letters*, 2008, 11(3): 296-310
- [26] Li Y, Jia ZJ, Sun QY, Zhan J, Yang Y, Wang D. Ecological restoration alters microbial communities in mine tailings profiles[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 25193
- [27] Van Der Heijden MGA, Hartmann M. Networking in the plant microbiome[J]. *PLoS Biology*, 2016, 14(2): e1002378
- [28] Dos Santos JV, Varón-López M, Soares CRFS, Leal PL, Siqueira JO, De Souza Moreira FM. Biological attributes of rehabilitated soils contaminated with heavy metals[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(7): 6735-6748
- [29] Silva AO, Da Costa AM, Dos Santos Teixeira AF, Guimarães AA, Dos Santos JV, De Souza Moreira FM. Soil microbiological attributes indicate recovery of an iron mining area and of the biological quality of adjacent phytophysognomies[J]. *Ecological Indicators*, 2018, 93: 142-151
- [30] De Oliveira Prado IG, De CássiaSoares Da Silva M, De Oliveira Prado DG, Kemmelmeier K, Pedrosa BG, Da Silva CC, Kasuya MCM. Revegetation process increases the diversity of total and arbuscular mycorrhizal fungi in areas affected by the Fundão dam failure in Mariana, Brazil[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 141: 84-95
- [31] Durall DM, Gamiet S, Simard SW, Kudrna L, Sakakibara SM. Effects of clearcut logging and tree species composition on the diversity and community composition of epigeous fruit bodies formed by ectomycorrhizal fungi[J]. *Canadian Journal of Botany*, 2006, 84(6): 966-980
- [32] Jamiolkowska A, Książniak A, Gałazka A, Hetman B, Kopacki M, Skwaryło-Bednars B. Impact of abiotic factors on development of the community of arbuscular mycorrhizal fungi in the soil: a review[J]. *International Agrophysics*, 2018, 32(1): 133-140

- [33] Wang YX, Ma J. Research on soil microbial biomass carbon and nitrogen in *Larch-Betula platylla* mixed forests of different ages[J]. Forest Resources Management, 2018(4): 55-60 (in Chinese)
王云霞, 马军. 不同林龄华北落叶松白桦混交林土壤微生物量碳氮含量研究[J]. 林业资源管理, 2018(4): 55-60
- [34] Li XZ, Qu QH. Soil microbial biomass carbon and nitrogen in Mongolian grassland[J]. Acta Pedologica Sinica, 2002, 39(1): 91-98 (in Chinese)
李香真, 曲秋皓. 蒙古高原草原土壤微生物量碳氮特征[J]. 土壤学报, 2002, 39(1): 91-98
- [35] Liu HG, Wang YJ, Tang M. Arbuscular mycorrhizal fungi diversity associated with two halophytes *Lycium barbarum* L. and *Elaeagnus angustifolia* L. in Ningxia, China[J]. Archives of Agronomy and Soil Science, 2017, 63(6): 796-806
- [36] Wang Y, Yang BB, Wang H, Yang C, Zhang J, Zhu M, Yang RY. Variation in microbial community structure in the rhizosphere soil of *Salvia miltiorrhiza* Bunge under three cropping modes[J]. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(13): 4832-4843 (in Chinese)
王悦, 杨贝贝, 王浩, 杨程, 张菊, 朱濛, 杨如意. 不同种植模式下丹参根际土壤微生物群落结构变化[J]. 生态学报, 2019, 39(13): 4832-4843
- [37] Wang YM, Fan JQ, Shi ZY. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungal in China[J]. Microbiology China, 2018, 45(11): 2399-2408 (in Chinese)
王永明, 范洁群, 石兆勇. 中国丛枝菌根真菌分子多样性[J]. 微生物学通报, 2018, 45(11): 2399-2408
- [38] Xing D, Wang ZH, Xiao JJ, Han SY, Luo CB, Zhang AM, Song LL, Gao XB. The composition and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Karst soils and roots collected from mulberry of different ages[J]. Ciência Rural, 2018, 48(10): e20180361