

凋落物清除对贵州马尾松外生菌根真菌群落的影响

魏珊, 徐明, 张姣, 文春玉, 张健*

贵州大学生命科学学院 真菌资源研究所, 贵州 贵阳 550025

摘要: 凋落物作为森林土壤有机质的重要来源, 对森林生态系统土壤微生物群落具有重要影响。本研究以清除凋落物层马尾松林(L)和未清除凋落物层马尾松林(NL)作为调查对象, 探究凋落物清除对马尾松林外生菌根真菌(EMF)群落的影响。马尾松 EMF 群落共鉴定出 56 个 OTUs, 隶属于 2 门 6 纲 14 目 16 科 24 属, 且担子菌门丰富度明显高于子囊菌门; 其中棉革菌属 *Tomentella*、红菇属 *Russula*、乳菇属 *Lactarius*、土生空团菌属 *Cenococcum* 为优势属, 特有 OTUs 高于共有 OTUs。NL 与 L 样地间马尾松 EMF 群落组成和结构差异明显, 门水平上, 凋落物清除增加了马尾松 EMF 群落子囊菌门的丰富度; 属水平上, 凋落物清除马尾松 EMF 群落土生空团菌属 *Cenococcum*、假小垫革菌属 *Pseudotomentella* 和古根菌属 *Archaeorhizomyces* 相对丰度占比增加, 而乳菇属 *Lactarius*、红菇属 *Russula* 和绵革菌属 *Tomentella* 相对丰度占比则减少。冗余分析(RDA)表明全磷、pH 和有效磷是马尾松 EMF 群落重要的影响因子。马尾松林凋落物清除对马尾松 EMF 群落组成结构产生重要影响。

关键词: 凋落物; 马尾松; 外生菌根真菌; 多样性

[引用本文]

魏珊, 徐明, 张姣, 文春玉, 张健, 2023. 凋落物清除对贵州马尾松外生菌根真菌群落的影响. 菌物学报, 42(7): 1495-1505
Wei S, Xu M, Zhang J, Wen CY, Zhang J, 2023. Effects of litter removal on ectomycorrhizal fungal communities of *Pinus massoniana* in Guizhou Province. Mycosystema, 42(7): 1495-1505

Effects of litter removal on ectomycorrhizal fungal communities of *Pinus massoniana* in Guizhou Province

WEI Shan, XU Ming, ZHANG Jiao, WEN Chunyu, ZHANG Jian*

Department of Ecology, School of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

Abstract: As an important source of forest soil organic matter, litter has an important impact on soil microbial communities in forest ecosystems. In this study, the *Pinus massoniana* forests with litter layer (NL) and without litter layer (L) were investigated to explore the effect of litter removal on the ectomycorrhizal fungal (EMF) community. A total of 56 OTUs was identified in

资助项目: 国家自然科学基金(31960234, 31660150)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31960234, 31660150).

*Corresponding author. E-mail: zhangjian12102@163.com

Received: 2022-09-26; Accepted: 2022-10-11

the *P. massoniana* EMF community, belonging to 2 phyla, 6 classes, 14 orders, 16 families and 24 genera, and the richness of Basidiomycota was significantly higher than that of Ascomycota. *Tomentella*, *Russula*, *Lactarius* and *Cenococcum* were the dominant genera, and the endemic OTUs were higher than the common OTUs. There were significant differences in the composition and structure of the EMF community between the NL and L plots. Litter removal increased the abundance of Ascomycota in the EMF community, and the relative abundances of *Cenococcum*, *Pseudotomentella* and *Archaeorhizomyces* increased, while the relative abundances of *Lactarius*, *Russula* and *Tomentella* decreased. Redundancy analysis (RDA) indicated that total phosphorus (TP), pH and available phosphorus (AP) were important influencing factors of EMF community of *P. massoniana*. Litter removal has an important impact on the composition and structure of *P. massoniana* EMF community.

Keywords: litter; *Pinus massoniana*; ectomycorrhizal fungi; diversity

外生菌根真菌(ectomycorrhizal fungi, EMF)作为土壤真菌群落中最重要的功能群之一,能与森林中多数优势树种建立共生关系(Moeller & Peay 2016)。通过与宿主植物根系形成共生体促进其对土壤中养分和水分的吸收,从而提高植物抗逆和抗病能力并促进植物的生长(Jitender & Atri 2018)。EMF 物种多样性丰富,全球已发现的 EMF 约有 2 万多种,其群落结构受植物种类、海拔、季节和土壤等环境条件的影响(van der Heijden *et al.* 2015)。

植物生长和凋落物降解之间长期的动态平衡是保持森林生态系统稳定的关键。凋落物作为森林土壤有机质的重要来源,影响着土壤生化反应过程及微生物群落动态,是植物改变土壤性质的主要方式之一(Augusto *et al.* 2015),其分解通过生物与非生物因素共同完成。森林凋落物输入可提高土壤有机碳含量(洪小敏等 2021),而短时间内凋落物清除后植物将通过减少土壤碳消耗来补偿土壤碳损失从而维持生长(Zhang *et al.* 2022)。EMF 群落依靠其强大的菌丝网络通过对土壤中有机碳输入、固定和输出,对土壤碳、氮循环产生着重要影响(Brzostek *et al.* 2015)。另外,凋落物分解时,EMF 通过驱动粗腐殖质层锰过氧化物酶活性及根际中几丁质酶和木质素酶活性的提升将有机物转化为植物可利用的形

式,表明 EMF 在调节地下有机物累积中的重要性(Brzostek *et al.* 2015; Sterkenburg *et al.* 2018),这也可能是马尾松养分获取的关键。在对 EMF 宿主根系进行“挖沟”处理阻断 EMF 作用的研究中表明,对照组的凋落物分解速度明显慢于“挖沟”处理凋落物(Chuyong *et al.* 2002);这可能是由“Gadgil 效应”引起,即 EMF 与腐生菌通过对氮的竞争来延缓凋落物分解(Averill *et al.* 2014);也可能是 EMF 群落多样性的增加降低了凋落物层水分含量,从而减缓凋落物的分解;但也有研究指出排除 EMF 会降低凋落物的分解率(Lang *et al.* 2020)。有研究指出凋落物分解速度受 EMF 菌丝体的生化成分影响,酰胺作为 EMF 对凋落物降解响应的主要物质,表明了 EMF 在氮的同化和氨基酸的转化等方面的重要作用;而 EMF 对凋落物的生化反应因 EMF 物种而异,同种 EMF 对不同类型凋落物的响应机制也存在差异,这表明真菌蛋白质组对环境变化的动态响应(Yang *et al.* 2019)。另外,EMF 菌丝向凋落物的生长是随机且非特异性的,凋落物类型对凋落物中 ECM 真菌群落组成产生轻微影响(Eveli *et al.* 2018)。目前,在凋落物清除与 EMF 多样性的研究上国内外学者对此结论不一,如有研究表明凋落物的输入初始阶段对微生物群落结构不会造成较大影响,但后期提高了真菌群落的多样性

(Heijboer *et al.* 2018); 也有研究指出凋落物清除作为人为干扰条件之一, 降低了 EMF 群落多样性(Aučina *et al.* 2015)。

马尾松 *Pinus massoniana* 在我国南方地区广泛分布, 是区域森林经营与恢复重建过程中广泛应用的树种, 具有重要的生态及经济价值(董茜等 2022)。目前马尾松与 EMF 相关研究主要集中在其幼苗、林龄、林分类型对 EMF 群落结构及其多样性的影响。如涂桂英等(2022)对马尾松幼苗接种 EMF 后发现在马尾松供、受体苗木间形成菌丝桥, 提高了植株的吸氮量, 促进了幼苗的生长。李敏(2021)则发现褐环乳牛肝菌 *Suillus luteus* 对重度干旱胁迫下的马尾松幼苗生长具促进作用。干扰对森林生态系统结构、功能和过程产生深刻影响, 有关干扰对马尾松林 EMF 群落影响在森林采伐(Parladé *et al.* 2019)、火烧(张姣等 2022)等方面已有报道, 但目前有关凋落物清除对马尾松林 EMF 群落结构影响的研究却鲜有报道。因此, 本研究调查了凋落物层的清除对马尾松林 EMF 群落的影响, 以期为区域马尾松林的科学与可持续经营提供科学依据。

1 材料与方

1.1 研究区概况

研究区位于贵阳市花溪区孟关乡林场(105°44′–46°E, 25°22′–23°N), 该区域山地丘陵

为主地貌, 海拔高度在 1 100–1 200 m, 属亚热带季风气候, 年均温 15 °C, 无霜期 276 d, 年均降雨量 1 085 mm 左右, 土壤类型主要为黄壤, 植被类型为针叶林, 区域内乔木层优势树种为马尾松, 灌木层由茅栗 *Castanea seguinii*、槲栎 *Quercus aliena*、杜鹃 *Rhododendron simsii* 和铁仔 *Myrsine africana* 等构成, 草本层主要有铁芒箕 *Dicranopteris linearis*、狗脊 *Woodwardia japonica* 和野青茅 *Deyeuxia pyramidalis* 等(姚珊等 2021)。

1.2 样地设置和样品采集

去除凋落物马尾松林样地于 2019 年进行凋落物层(包括土壤有机质层)的采收, 也对林下灌草植物进行割刈清除。以同一山体且立地条件相似的未清除凋落物马尾松林作为对照样地, 每种类型设置 3 个重复样地, 共 6 个调查样地。2020 年 10–11 月在每个样地内建立 20 m×20 m 植被调查样方(表 1)。对样方内所有乔木进行编号, 并对树高及胸径进行测量和记录。在样方内随机选取 10 棵长势均一且相邻距离大于 2 m 的马尾松作为采样对象, 采用索根法采集每棵马尾松目标树 2 方向上的各 15–20 cm 长度细根混合成一份根系样品; 共 60 份菌根根系样品。

用土钻按随机 6 点取样法采集各调查样方内 0–20 cm 土层的混合土壤样品, 用保鲜箱带回实验室; 土壤样品清除杂质后过 2 mm 土筛, 待自然风干后再分别过 1 mm 和 0.25 mm 孔径土筛用于土壤指标测定。

表 1 样地基本信息
Table 1 Basic information of sample plots

样地	经纬度	海拔	坡度	坡向
Sample	Latitude and longitude	Altitude (m)	Slope (°)	Aspect of slope
L1	106°44′36.85″E, 26°22′54.44″N	1 126	18	西北 WN 311°
L2	106°44′34.80″E, 26°22′51.73″N	1 132	24	西北 WN 310°
L3	106°44′47.29″E, 26°22′59.15″N	1 184	23	西北 WN 298°
NL1	106°44′46.15″E, 26°23′12.55″N	1 161	13	西 W 291°
NL2	106°44′50.12″E, 26°23′13.55″N	1 167	15	西 W 261°
NL3	106°46′51.34″E, 26°23′13.52″N	1 183	18	西南 WS 231°

L: 清除凋落物; NL: 未清除凋落物. 下同
L: Litter removal; NL: Litter not removed. The same below.

1.3 土壤指标测定

有机碳(soil organic carbon, SOC)采用重铬酸钾氧化-外加热法测定;土壤 pH 采用玻璃电极法(水土重量比为 2.5:1)测定;全氮(total nitrogen, TN)采用半微量凯氏定氮法测定;全磷(total phosphorus, TP)采用浓硫酸-高氯酸消煮法测定;有效氮(available nitrogen, AN)采用碱解扩散法测定;有效磷(available phosphorus, AP)采用盐酸-硫酸浸提液比色法测定;有效钾(available potassium, AK)采用醋酸铵-火焰分光光度计法测定;土壤脲酶(urease, URE)活性采用苯酚钠-次氯酸钠比色法测定;土壤过氧化氢酶(catalase, CAT)活性采用高锰酸钾滴定法测定(鲁如坤 2000)。

1.4 EMF 形态和分子鉴定

采用体式显微镜 SMZ-171 (Motic China Group Co., Ltd)根据菌根形态、颜色、分支数、有无菌丝及菌丝形态等特征,对菌根进行形态分类,对其形态特征和数量进行记录和拍照。每种形态挑取 3 个菌根根尖分别放入加有无菌水的 1.5 mL 离心管中,并于-20 °C保存备用。采用改进的十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法对外生菌根真菌 DNA 进行提取,采用真菌通用引物 ITS1-F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS-4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')对外生菌根真菌 rDNA-ITS 区段进行 PCR 扩增,PCR 反应体系为 25 μ L,PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测,选择只有一条清晰条带的样品送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

1.5 数据处理

将测得外生菌根真菌的 ITS 片段于 GenBank 中通过 BLAST 进行序列比对,比对结果进行人工修正。借助 MEGA 7.0 软件包运用邻接法进行系统发育分析和系统发育树构建,对所测序列在种水平上进行进化地位分析,确定其物种名。使用 Excel 2019 软件进行相关数据整理与作图,用 SPSS 22.0 软件对清除与未清除凋落物

处理下的土壤理化指标及 EMF α 多样性指数进行描述性统计和独立样本 t 检验,比较其差异显著性;使用联川生物云平台制作 Veen 图并进行 NMDS 分析;采用 Canoco 5.0 软件对环境因子与 EMF 群落进行冗余分析,确定环境因子与 EMF 群落的相关性。

2 结果与分析

2.1 凋落物清除对马尾松林土壤性质的影响

凋落物清除后马尾松林土壤性质结果表明,凋落物的清除对土壤理化性质产生了一定影响(表 2)。清除凋落物后土壤 pH、URE 及 CAT 降低,除 pH 值显著降低外($P<0.05$),酶活性无显著差异($P>0.05$);其余养分含量均有所上升,除 AK 含量显著上升外($P<0.05$),TN、TP、AN、AP 和 SOC 均无显著差异。

表 2 凋落物清除与未清除马尾松林土壤性质
Table 2 Soil properties of *Pinus massoniana* forests of litter removal (L) and unremoval (NL)

指标 Measurement index	清除凋落物 L	未清除凋落物 NL
pH	4.43±0.08b	4.70±0.07a
全氮 TN (g/kg)	6.68±1.41a	6.11±0.50a
全磷 TP (g/kg)	0.45±0.10a	0.32±0.13a
有效氮 AN (mg/kg)	80.47±5.77a	80.34±4.78a
有效磷 AP (mg/kg)	8.34±3.49a	6.74±2.26a
有效钾 AK (mg/kg)	36.89±2.69a	29.33±1.9E-14b
有机碳 SOC (g/kg)	27.77±4.99a	25.39±1.30a
脲酶 URE [mg/(g·h)]	0.28±0.03a	0.30±0.03a
过氧化氢酶 CAT [mg/(g·h)]	1.20±0.04a	1.23±0.15a

数据为均值±标准差;同一行数据后不同字母表示差异显著($P<0.05$)

Data are mean $\pm$ standard deviation; Different letters after the data in the same line indicate significant differences ($P<0.05$). TN: Total nitrogen; TP: Total phosphorus; AN: Available nitrogen; AP: Available phosphorus; AK: Available potassium; SOC: Soil organic carbon; URE: Urease; CAT: Catalase.

2.2 凋落物清除对马尾松 EMF 群落组成及结构的影响

凋落物清除与未清除的马尾松林外生菌根真菌 OTUs 采样数量的稀释曲线(图 1A), 随着采样数量的增加 OTUs 数增加且趋于平缓达到平台期, 这表明采样数量基本能表达样地中 EMF 群落的真实情况。本研究马尾松 EMF 群落共获得 137 条有效 DNA 序列, 鉴定出 56 个 OTUs, 隶属于 2 门 6 纲 14 目 16 科 24 属(表 3)。OTUs 水平上绘制 Veen 图(图 1B), 凋落物清除有 35 个 OTUs, 未清除凋落物有 35 个 OTUs, 清除凋落物与未清除凋落物样地内共有 OTUs 为 14 (25%)个, 特有 OTUs 均为 21 个, 占比为 37.5%。表明少数真菌类群在 2 种类型样地内均存在, 多数真菌类群仅存在于特定样地类型中, 凋落物的清除使马尾松 EMF 群落组成发生了变化。

凋落物清除与未清除马尾松林中担子菌门与子囊菌门的比例分别约为 3:1 和 5:1 (图 2A)。棉革菌属 *Tomentella* 和红菇属 *Russula* 在两种类型样地中均占优势地位, 未清除凋落物马尾松林中乳菇属 *Lactarius* 为 EMF 群落的优势属; 凋落物清除马尾松林 EMF 群落中子囊菌门物种丰富度增加, EMF 的优势属为土生空团菌属 *Cenococcum*。与未清除凋落物层马尾松林 EMF 群落相比, 凋落物清除马尾松林 EMF 群落中古根菌属 *Archaeorhizomyces*、土生空团菌属 *Cenococcum*、假小垫革菌属 *Pseudotomentella* 相对丰度占比增加, 乳菇属 *Lactarius*、红菇属 *Russula*、棉革菌属 *Tomentella* 和蜡壳菌属 *Sebacina* 相对丰度占比则减少, 这表明凋落物清除对马尾松林 EMF 群落组成与结构产生明显的影响(图 2B)。

2.3 马尾松 EMF 群落多样性

凋落物清除与未清除马尾松林的 EMF 群落 α 多样性指数间存在一定差异; 凋落物清除后马尾松林 EMF 群落的 Shannon 指数和 Chao 1 指数均低于对样地, Simpson 指数高于对样地,

但差异均不显著($P>0.05$) (图 3A), 表明凋落物的清除有降低马尾松林 EMF 群落的多样性趋势。非度量多维尺度分析(NMDS)可以看出凋落物清除马尾松林的 EMF 群落样地间未聚类在同一象限, 表明样地间的重复性相对较弱; 同时, 凋落物清除与未清除凋落物马尾松林的 EMF 群落样地间空间上分开, 这表明两种类型样地间的马尾松 EMF 群落间差异明显(图 3B)。

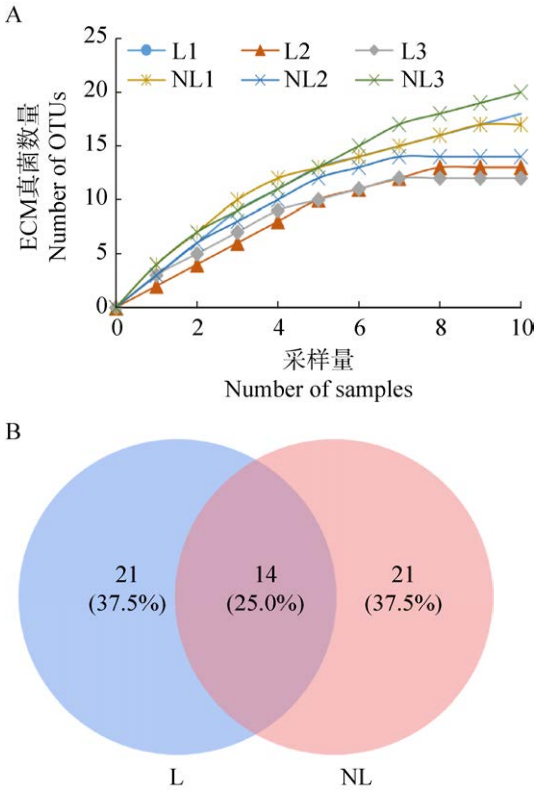


图 1 凋落物清除与未清除马尾松林 EMF 物种稀释曲线(A)和 Veen 图(B)

Fig. 1 Ectomycorrhizal fungal species dilution curves (A) and Veen plots (B) of *Pinus massoniana* forests of litter removal and unremoval.

2.4 影响 EMF 群落的土壤因子分析

通过 RDA 分析了土壤理化性质对马尾松林 EMF 多样性及群落结构的影响(图 4), RDA 结果显示第一轴和第二轴解释率分别为 41.89%和 26.04%, 表明环境因子对 EMF 群落结构具有一定影响。TP 对外生菌根真菌的分布有极显著影

表 3 凋落物清除与未清除马尾松外生菌根根尖 ITS 区段序列 BLAST 比对结果

Table 3 BLAST alignment results of the ITS segment sequence of ectomycorrhizal root tips of *Pinus massoniana* under the conditions of litter removal and unremoval

序号 No.	分类 Classified as (OTUs)	序列长度 Sequence length (bp)	相似菌种登录号 Nearest type strain accession No.	相似性 Similarity (%)
1	Thelephoraceae sp.	707	KP866135	99.25
2	<i>Amanita citrina</i>	663	KP004945	99.85
3	<i>Amanita</i> sp.1	706	OK643790	99.43
4	<i>Amanita</i> sp.2	689	AB253517	99.12
5	<i>Amanita spissacea</i>	656	MW554386	99.69
6	<i>Amphinema</i> sp.	606	JN943925	99.32
7	<i>Archaeorhizomyces borealis</i>	600	NR_126144	98.99
8	<i>Archaeorhizomyces</i> sp.	434	MT522545	99.29
9	<i>Cenococcum geophilum</i>	490	MT024022	99.18
10	<i>Cenococcum</i> sp.1	538	MT366777	98.88
11	<i>Cenococcum</i> sp.2	859	AB769890	98.55
12	<i>Ceratobasidium</i> sp.	562	JQ991676	91.59
13	<i>Clavulina</i> sp.	734	KF359593	96.34
14	<i>Coltriciella</i> sp.1	940	JF273521	98.72
15	<i>Coltriciella</i> sp.2	663	OM236640	92.94
16	<i>Coltriciella subglobosa</i>	674	MW546517	81.32
17	Helotiales sp.1	556	KX440125	99.46
18	Helotiales sp.2	572	LC131016	96.32
19	<i>Hyaloscypha</i> sp.	553	MT522553	98.9
20	<i>Lactarius hatsudake</i>	714	EF685076	99.3
21	<i>Lactarius kesiya</i>	738	KF432994	99.58
22	<i>Lactarius parallelus</i>	690	MH984997	99.27
23	<i>Lactarius</i> sp.1	774	LC013378	99.32
24	<i>Lactarius</i> sp.2	653	KP866125	93.02
25	<i>Lactarius vividus</i>	731	KT163432	99.73
26	<i>Limacella glioderma</i>	611	FJ478086	99.32
27	<i>Phialocephala fortinii</i>	565	KX440121	100
28	<i>Phialocephala</i> sp.	590	JX987760	99.48
29	<i>Phylloporus rubiginosus</i>	848	NR_120025	99.4
30	<i>Piloderma</i> sp.	650	AB831864	98.12
31	<i>Pseudotomentella rhizopunctata</i>	728	KR019815	98.90
32	<i>Pseudotomentella</i> sp.	659	AB839386	100
33	<i>Russula compacta</i>	706	KJ778757	99.29
34	<i>Russula densifolia</i>	613	AB291761	100
35	<i>Russula rosea</i>	737	MZ726387	98.86
36	<i>Russula sanguinea</i>	631	MT560676	99.19

(待续)

(续表 3)

序号 No.	分类 Classified as (OTUs)	序列长度 Sequence length (bp)	相似菌种登录号 Nearest type strain accession No.	相似性 Similarity (%)
37	<i>Russula</i> sp.1	667	JN129410	99.4
38	<i>Russula</i> sp.2	696	KP866128	99.54
39	<i>Russula</i> sp.3	693	KU141178	98.13
40	<i>Russula</i> sp.4	671	MF405766	98.22
41	<i>Scleroderma citrinum</i>	629	MK430043	99.84
42	<i>Sebacina dimitica</i>	587	MT678898	99.14
43	<i>Sebacina</i> sp.1	610	JF273542	99.52
44	<i>Sebacina</i> sp.2	640	JX630709	96.95
45	<i>Sistotrema</i> sp.	606	HE814171	93.65
46	<i>Tomentella</i> sp.1	645	KY686250	99.68
47	<i>Tomentella</i> sp.2	657	MK211707	99.85
48	<i>Tomentella</i> sp.3	681	EU625851	95.51
49	<i>Tomentella</i> sp.4	659	EU625851	95.57
50	<i>Tomentella</i> sp.5	626	GQ240909	99.84
51	<i>Tomentella stiposa</i>	649	MT522582	100
52	<i>Tomentellopsis echinospora</i>	665	MT678913	99.39
53	<i>Trichoderma</i> sp.	626	MH397484	99.34
54	<i>Trichoderma tomentosum</i>	618	MK322729	99.02
55	<i>Tylospora</i> sp.1	647	KF007260	99.18
56	<i>Tylospora</i> sp.2	542	JQ991914	79.45

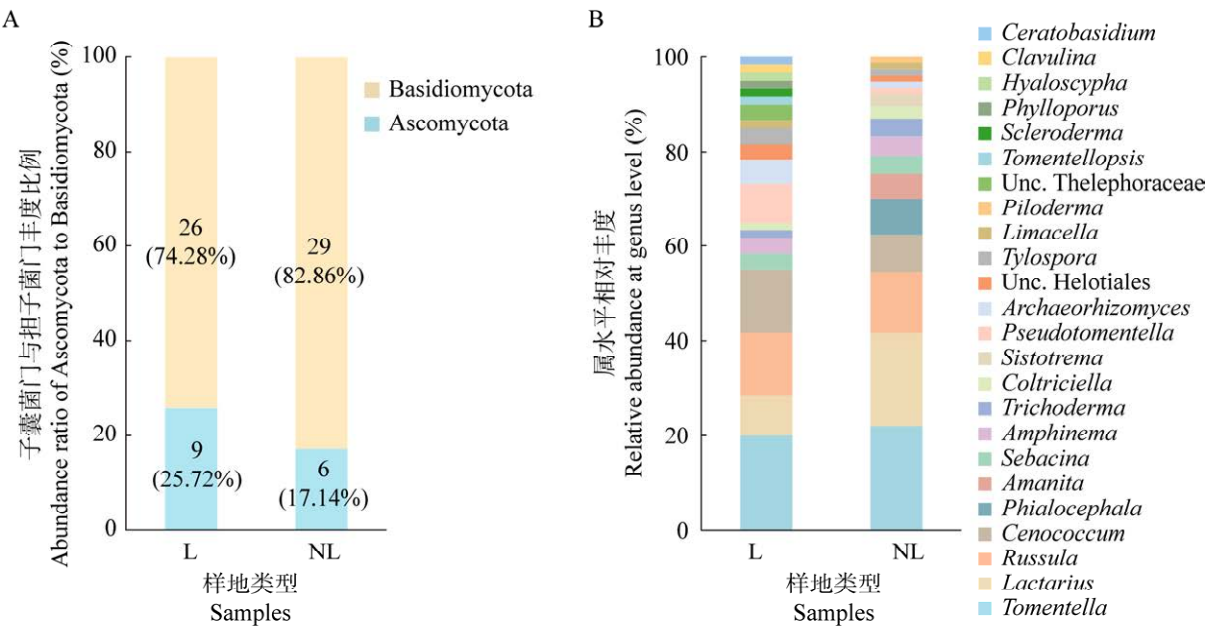


图 2 凋落物清除与未清除马尾松林 EMF 门(A)和属(B)水平上群落组成变化
Fig. 2 Changes in community composition at phylum (A) and genus (B) levels of ectomycorrhizal fungi in *Pinus massoniana* forests of litter removal and unremoval.

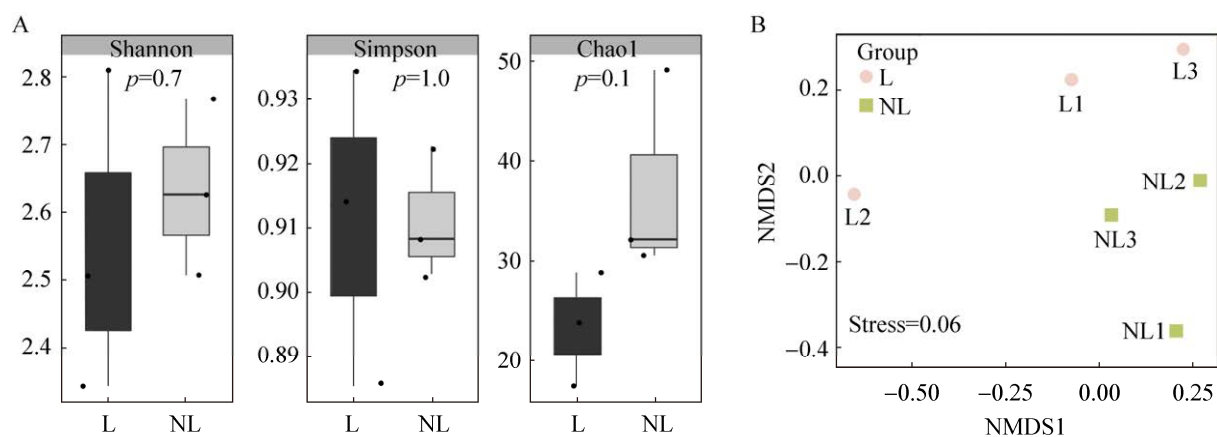


图3 凋落物清除与未清除马尾松林外生菌根 α 多样性(A)和非度量多维尺度分析(B)

Fig. 3 Alpha diversity (A) and non-metric multidimensional scaling analysis (B) of ectomycorrhizal fungi in *Pinus massoniana* forests of litter removal and unremoval.

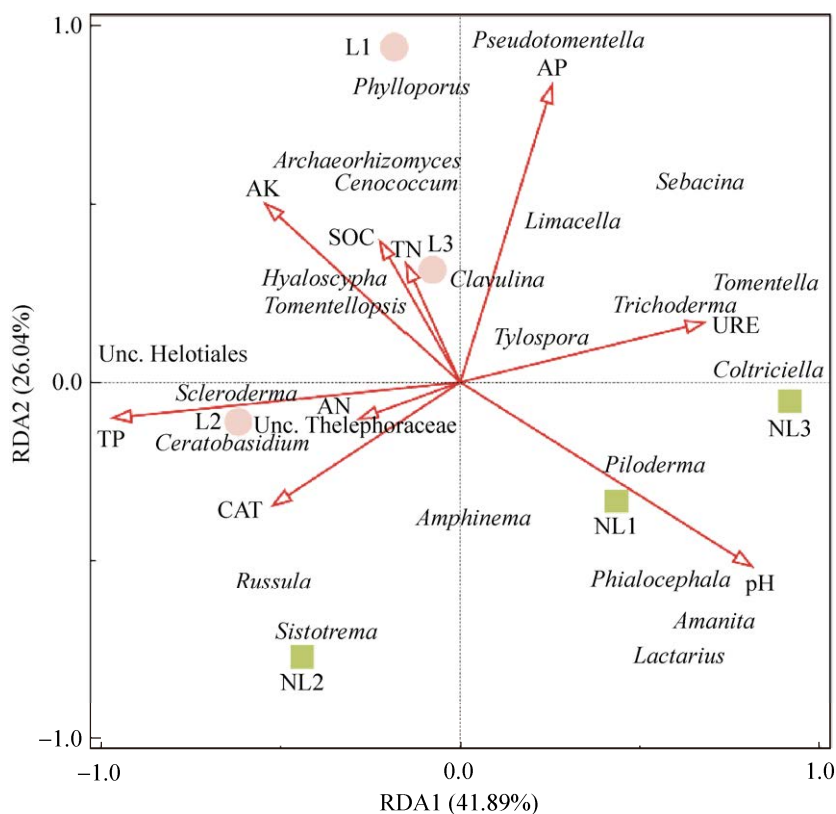


图4 土壤因子与马尾松 EMF 群落 RDA 分析

Fig. 4 RDA analysis between soil factors and ectomycorrhizal fungal communities of *Pinus massoniana*.

响,对外生菌根真菌多样性及群落结构变化的解释度最高,为40.0%;其次为pH、AP和CAT,解释度分别为25.7%、13.0%和12.2%。其中乳菇属 *Lactarius*、头宽盘菌属 *Phialocephala*、鹅膏菌属 *Amanita* 与 pH 呈显著正相关,棉革菌属

Tomentella 与 TP 呈极显著负相关,红菇属 *Russula* 与 CAT 呈显著正相关,鹅膏菌属 *Amanita* 与 AK 呈显著负相关,土生空团菌属 *Cenococcum* 与 SOC 呈显著正相关,蜡壳菌属 *Sebacina* 与 URE 呈显著正相关。

3 讨论与结论

本研究对清除和未清除凋落物马尾松林 EMF 群落进行调查, 结果表明: 共获得马尾松 EMF 群落 56 个 OTUs, 隶属于 2 门 6 纲 14 目 16 科 24 属; 凋落物清除后马尾松 EMF 群落担子菌门的 OTU 数量有所减少, 这可能与担子菌门 EMF 具有相关氧化酶将凋落物中较易降解的有机质无机化有关(Cheeke *et al.* 2017)。本研究中凋落物的清除导致有机质减少, 从而可能导致具相关功能的担子菌门 EMF 减少。而子囊菌门的比例有所增加, 这与已有报道在恶劣环境中子囊菌门 EMF 更占据优势的结果相一致(Sun *et al.* 2017)。凋落物清除与未清除马尾松林 EMF 群落中, 棉革菌属 *Tomentella*、红菇属 *Russula*、乳菇属 *Lactarius* 和土生空团菌属 *Cenococcum* 均占据优势, 与不同群丛马尾松 EMF 多样性研究中优势属和常见属结果相一致(杨云礼 2021)。凋落物清除后土生空团菌属 *Cenococcum*、假小垫革菌属 *Pseudotomentella* 和古根菌属 *Archaeorhizomyces* 增加, 乳菇属 *Lactarius*、红菇属 *Russula* 和绵革菌属 *Tomentella* 减少; 有研究指出凋落物清除和输入引起氮和酚类化合物含量变化, 不同功能类群 EMF 响应机制存在差异, 从而产生积极或消极的反应, 在土壤养分贫瘠时现象更为显著(Cullings *et al.* 2003)。如子囊菌门中的土生空团菌属 *Cenococcum* 与其他 EMF 相比具更高的抗旱性, 能够耐受不利的生境条件(Taniguchi *et al.* 2018; Dauphin *et al.* 2021), 这与本研究中凋落物层清除后土生空团菌属的相对丰度呈现增加是相符的。凋落物层清除与未清除马尾松林 EMF 群落中特有 OTUs 均高于共有 OTUs, 这预示着马尾松林 EMF 群落中特有种对适应生境变化可能更为敏感。凋落物层清除与未清除马尾松林 EMF 群落间的 α 多样性未表现出显著性差异, 这可能与土壤真菌群落具有响应干扰作用的功能补偿策略有关(Marin

et al. 2017)。

本研究中凋落物清除马尾松林土壤 pH 显著降低, 这与已有报道结果相一致(Lei *et al.* 2021), 原因可能是凋落物产生的腐殖质可提升 pH。本研究中马尾松林凋落物层清除后, 土壤 AK 显著升高, 这与已有报道不一致(Liu *et al.* 2022), 原因可能是马尾松 EMF 群落多样性降低导致寄主植物对钾吸收速率降低; 也有可能是短时间内植物通过减少钾离子的消耗来维持体内的元素平衡。凋落物清除马尾松林土壤中的碳、氮、磷及酶活性差异均不显著, 这可能是由于凋落物清除时间较短不足以引发某些过程的响应。有关研究指出土壤 pH 与磷是影响土壤真菌 OTUs 丰富度的主要环境因子(Leho *et al.* 2014); EMF 分泌代谢物招募解磷菌, 并通过对有机化合物降解相关基因的表达, 产生多种磷酸酶, 且不同 EMF 类群中酶的表达存在差异(梅言等 2022)。通过对 EMF 群落与土壤理化性质的相关性分析, 结果表明 TP 与 EMF 群落结构的变化显著相关, 其次为 pH, 与上述结论相符。本研究中马尾松 EMF 群落对凋落物清除引起的土壤理化变化也表现出了相应的响应, 相对丰度最高的绵革菌属 *Tomentella* 与 TP 呈极显著负相关, 研究指出土壤中磷的状态将对森林中的 EMF 群落组成产生选择性影响(John 2011)。相对丰度较高的乳菇属 *Lactarius*、头宽盘菌属 *Phialocephala*、鹅膏菌属 *Amanita* 与土壤 pH 呈显著正相关, 同时鹅膏菌属 *Amanita* 与 AK 呈显著负相关, 该结果表明凋落物清除对马尾松林土壤性质和 EMF 群落结构的影响具有相关性。

本研究揭示了凋落物清除对马尾松林 EMF 群落组成和结构具有明显的影响。但由于本次调查样地并未涉及凋落物清除时间梯度设计, 有关凋落物对马尾松林 EMF 群落影响机制仍有待进一步深入研究; 未来可设计不同宿主输入或清除不同类型凋落物的相关实验, 通过长时间的监

测,探究凋落物对土壤性质及外生菌根真菌宿主的长期影响,以期为区域森林的可持续经营与恢复重建提供科学依据。

[REFERENCES]

- Aučina A, Rudawska M, Leski T, Skridaila A, Pašakinskiene I, Riepšas E, 2015. Forest litter as the mulch improving growth and ectomycorrhizal diversity of bare-root Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings. *iForest - Biogeosciences and Forestry*, 8(1): 394-400
- Augusto L, de Schrijver A, Vesterdal L, Smolander A, Prescott C, Ranger J, 2015. Influences of evergreen gymnosperm and deciduous angiosperm tree species on the functioning of temperate and boreal forests. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 90(2): 444-466
- Averill C, Turner BL, Finzi AC, 2014. Mycorrhiza-mediated competition between plants and decomposers drives soil carbon storage. *Nature*, 505(7484): 543-545
- Brzostek ER, Dragoni D, Brown ZA, Phillips RP, 2015. Mycorrhizal type determines the magnitude and direction of root-induced changes in decomposition in a temperate forest. *The New Phytologist*, 206(4): 1274-1282
- Cheeke TE, Phillips RP, Brzostek ER, Rosling A, Bever JD, Fransson P, 2017. Dominant mycorrhizal association of trees alters carbon and nutrient cycling by selecting for microbial groups with distinct enzyme function. *The New Phytologist*, 214(1): 432-442
- Chuyong GB, Newbery DM, Songwe NC, 2002. Litter breakdown and mineralization in a Central African rain forest dominated by ectomycorrhizal trees. *Biogeochemistry*, 61(1): 73-94
- Cullings KW, New MH, Makhija S, Parker VT, 2003. Effects of litter addition on ectomycorrhizal associates of a lodgepole pine (*Pinus contorta*) stand in Yellowstone National Park. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(7): 3772-3776
- Dauphin B, de Freitas PM, Kohler A, Grigoriev IV, Barry K, Na H, Amirebrahimi M, Lipzen A, Martin F, Peter M, Croll D, 2021. Cryptic genetic structure and copy-number variation in the ubiquitous forest symbiotic fungus *Cenococcum geophilum*. *Environmental Microbiology*, 23(11): 6536-6556
- Dong Q, Wang GZ, Pang DB, Dong L, Zhang M, Liu YG, Wan L, Zhou JX, 2022. Soil quality evaluation of different vegetation restoration measures in karst area. *Forest Research*, 35(3): 169-178 (in Chinese)
- Eveli O, Sandra B, Sten A, Julia K, Leho T, 2018. Litter species richness and composition effects on fungal richness and community structure in decomposing foliar and root litter. *Soil Biology and Biochemistry*, 125: 329-339
- Heijboer A, de Ruiter PC, Bodelier P, Kowalchuk GA, 2018. Modulation of litter decomposition by the soil microbial food web under influence of land use change. *Frontiers in Microbiology*, 9: 2860
- Hong XM, Wei Q, Li MJ, Yu TW, Yan Q, Hu YL, 2021. Effects of aboveground and belowground litter input on the balance of soil new and old organic carbon under the typical forests in subtropical region. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 32(3): 825-835 (in Chinese)
- Jitender K, Atri NS, 2018. Studies on ectomycorrhiza: an appraisal. *The Botanical Review*, 84(2): 108-155
- John WGC, 2011. Ectomycorrhizal fungi: the symbiotic route to the root for phosphorus in forest soils. *Plant and Soil*, 344(1/2): 51-71
- Lang AK, Jevon FV, Vitorisz CR, Ayres MP, Matthes JH, 2020. Fine roots and mycorrhizal fungi accelerate leaf litter decomposition in a northern hardwood forest regardless of dominant tree mycorrhizal associations. *The New Phytologist*, 230(1): 316-326
- Leho T, Mohammad B, Sergei P, *et al.* (more than 20 authors), 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, 346(6213): 1052-1053
- Lei L, Xiao W, Zeng L, Frey B, Huang Z, Zhu J, Cheng R, Li M, 2021. Effects of thinning intensity and understory removal on soil microbial community in *Pinus massoniana* plantations of subtropical China. *Applied Soil Ecology*, 167(2): 104055
- Li M, 2021. Physiological and molecular mechanisms of ectomycorrhizal bacteria enhancing drought resistance of *Pinus massoniana* seedlings. PhD Dissertation, Guizhou University, Guiyang. 1-138 (in Chinese)
- Liu SQ, Yang R, Peng XD, Hou CL, Ma JB, Guo JR, 2022. Contributions of plant litter decomposition to soil nutrients in ecological tea gardens. *Agriculture*, 12(7): 1-19
- Lu RK, 2000. Soil agrochemical analysis methods. China Agricultural Science and Technology Press, Beijing. 1-638 (in Chinese)
- Marín C, Godoy R, Valenzuela E, Schlöter M, Wubet T, Boy J, Gschwendtner S, 2017. Functional land-use change effects on soil fungal communities in Chilean temperate rainforests. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(4): 985-1002
- Mei Y, Dai CC, Jia Y, 2022. Research progress of synergistic phosphorus solubilization between ectomycorrhizal fungi and ectomycorrhizal helper bacteria. *Chinese Journal of Ecology*, 41(8): 1619-1627 (in Chinese)

- Moeller HV, Peay K, 2016. Competition-function tradeoffs in ectomycorrhizal fungi. *PeerJ*, 4(7): e2270
- Parladé J, Queralt M, Pera P, Bonet JA, Castaño C, Martínez-Peña F, Piñol J, Senar MA, Miguel AMD, 2019. Temporal dynamics of soil fungal communities after partial and total clear-cutting in a managed *Pinus sylvestris* stand. *Forest Ecology and Management*, 449: 117456
- Sterkenburg E, Clemmensen KE, Ekblad A, Finlay RD, Lindahl BD, 2018. Contrasting effects of ectomycorrhizal fungi on early and late stage decomposition in a boreal forest. *The ISME Journal*, 12(9): 2187-2197
- Sun Q, Liu Y, Yuan H, Lian B, 2017. The effect of environmental contamination on the community structure and fructification of ectomycorrhizal fungi. *Microbiology Open*, 6(1): e396
- Taniguchi T, Kitajima K, Douhan GW, Yamanaka N, Allen MF, 2018. A pulse of summer precipitation after the dry season triggers changes in ectomycorrhizal formation, diversity, and community composition in a Mediterranean forest in California, USA. *Mycorrhiza*, 28(7): 665-677
- Tu GY, Wang Y, Tian L, Jiang ZT, Qin YZ, Liu SY, 2022. Effects of ectomycorrhizal fungal hyphae on transfer of nitrogen among *Pinus massoniana* seedlings. *Mycosystema*, 41: 2004-2015 (in Chinese)
- van der Heijden MGA, Martin FM, Selosse M, Sanders IR, 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *The New Phytologist*, 205(4): 1406-1423
- Yang N, Butenschoten O, Rana R, Kohler L, Hertel D, Leuschner C, Scheu S, Polle A, Pena R, 2019. Leaf litter species identity influences biochemical composition of ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 29(2): 85-96
- Yang YL, 2021. Characteristics and influencing factors of ectomycorrhizal fungi in different *Pinus massoniana* associations in Guizhou. Master Thesis, Guizhou University, Guiyang. 1-66 (in Chinese)
- Yao S, Guo QQ, Pan JW, Zhang YQ, Luo SQ, 2021. Dominant species of shrub-grass community under forest during the development of *Pinus massoniana* plantation niche dynamic analysis. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 41(8): 1417-1424 (in Chinese)
- Zhang CF, Cai YM, Zhang T, He TB, Li J, Li XY, Zhao QX, 2022. Litter removal increases the plant carbon input to soil in a *Pinus massoniana* plantation. *European Journal of Forest Research*, 141: 833-843
- Zhang J, Xu M, Wen CY, Nie K, Yang YL, Zhang J, 2022. Effects of fires on the ectomycorrhizal fungal community of *Pinus massoniana* in central Guizhou. *Mycosystema*, 41(9): 1430-1440 (in Chinese)

[附中文参考文献]

- 董茜, 王根柱, 庞丹波, 董亮, 张梅, 刘玉国, 万龙, 周金星, 2022. 喀斯特区不同植被恢复措施土壤质量评价. *林业科学研究*, 35(3): 169-178
- 洪小敏, 魏强, 李梦娇, 余坦蔚, 严强, 胡亚林, 2021. 亚热带典型森林地上和地下凋落物输入对土壤新老有机碳动态平衡的影响. *应用生态学报*, 32(3): 825-835
- 李敏, 2021. 外生菌根菌增强马尾松苗木抗旱性的生理和分子机理研究. 贵州大学博士论文, 贵阳. 1-138
- 鲁如坤, 2000. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社. 1-638
- 梅言, 戴传超, 贾永, 2022. 外生菌根真菌及其菌根辅助细菌协同解磷的研究进展. *生态学杂志*, 41(8): 1619-1627
- 涂桂英, 王艺, 田磊, 江泽汀, 覃云展, 刘山玉, 2022. 外生菌根真菌菌丝对马尾松苗氮素传递的影响. *菌物学报*, 41: 2004-2015
- 杨云礼, 2021. 贵州不同马尾松群丛外生菌根真菌群落特征及影响因子分析. 贵州大学硕士论文, 贵阳. 1-66
- 姚珊, 郭其强, 盘金文, 张亚琴, 罗丝琼, 2021. 马尾松人工林发育过程中林下灌草群落优势种生态位动态分析. *西北植物学报*, 41(8): 1417-1424
- 张姣, 徐明, 文春玉, 聂坤, 杨云礼, 张健, 2022. 黔中地区火灾对马尾松外生菌根真菌群落的影响. *菌物学报*, 41(9): 1430-1440