

黔中地区火灾对马尾松外生菌根真菌群落的影响

张姣，徐明，文春玉，聂坤，杨云礼，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：林火会对森林植被及其相关联的微生物群落产生重要影响。为揭示火灾对马尾松外生菌根真菌(ectomycorrhizal fungi, EMF)群落的影响,本研究以火灾马尾松林为研究对象,以周边立地条件相对一致、未火灾马尾松林为对照,采用形态鉴定与分子生物学技术相结合的研究方法,分析火灾对马尾松EMF群落的影响。共鉴定出马尾松EMF OTUs 69个,隶属于2门7纲15目18科23属,且担子菌门丰富度明显高于子囊菌门。火灾显著改变了马尾松EMF群落的组成和结构,其中火灾马尾松林中EMF群落的优势属主要为蜡蘑属*Laccaria*、红菇属*Russula*和棉革菌属*Tomentella*,未火灾马尾松林中EMF群落的优势属主要为乳菇属*Lactarius*、棉革菌属*Tomentella*和土生空团菌属*Cenococcum*。火灾样地马尾松的EMF群落相对于对照样地在组成与结构上存在明显差异,表现出特有OTUs高于共有OTUs。相对于未火灾马尾松林,火灾马尾松EMF群落的多样性指数和丰富度指数呈下降趋势($P>0.05$)。RDA分析表明,pH和TP是影响马尾松EMF群落的重要环境因子。综上所述,火灾干扰是影响黔中地区马尾松EMF群落的重要生态因素之一。

关键词：火灾；马尾松；外生菌根真菌；多样性；形态学；分子生物学

[引用本文] 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

Zhang J, Xu M, Wen CY, Nie K, Yang YL, Zhang J, 2022. Effects of fire on the community of ectomycorrhizal fungi of *Pinus massoniana* in central Guizhou, Southwest China. Mycosistema, 41(9): 1430-1440

Effects of fire on the community of ectomycorrhizal fungi of *Pinus massoniana* in central Guizhou, Southwest China

ZHANG Jiao, XU Ming, WEN Chunyu, NIE Kun, YANG Yunli, ZHANG Jian*

The Institute of Fungus Resources, College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

Abstract: Forest fires can make a notable impact on forest vegetation and associated microbial communities. In this study, the ectomycorrhizal fungi (EMF) community between post-fire forest

基金项目：国家自然科学基金(31960234, 31660150)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31960234, 31660150).

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

Received: 2022-01-05, accepted: 2022-03-08

of *Pinus massoniana* and non-fire *P. massoniana* forest with relatively consistent surrounding conditions was compared, and the influence of fire on EMF community was analyzed by combining morphological identification and molecular biology technology. A total of 69 OTUs of EMF was identified, belonging to 2 phyla, 7 classes, 15 orders, 18 families, and 23 genera. The abundance of Basidiomycota was significantly higher than that of Ascomycota. Fire significantly changed the composition and structure of the EMF community of *P. massoniana*. The dominant genera of EMF community in the post-fire *P. massoniana* forest were *Laccaria*, *Russula* and *Tomentella*, while those in the non-fire *P. massoniana* forest were *Lactarius*, *Tomentella* and *Cenococcum*. The EMF community of *P. massoniana* in post-fire plots has obvious differences in composition and structure as compared with that in the control plot, showing that the specific OTUs is higher than the common OTUs. Compared with non-fire *P. massoniana* forest, post-fire *P. massoniana* forest showed a downward trend ($P>0.05$) in diversity index and abundance index of EMF community. RDA analysis shows that pH and TP are important environmental factors affecting EMF community of *P. massoniana*. To sum up, fire disturbance is one of the important ecological factors affecting the EMF community of *P. massoniana* in central Guizhou.

Keywords: fire; *Pinus massoniana*; ectomycorrhizal fungi; diversity; morphology; molecular biology

菌根是植物的营养根与真菌形成的具有特定功能与形态的互利共生体，世界约 97% 的维管植物都能形成菌根(Brundrett & Tedersoo 2018)。外生菌根真菌(ectomycorrhizal fungi, EMF)作为森林生态系统的重要生物组分，在植物种间关系、群落结构与多样性、群落演替、生态系统的物质循环和能量流动等方面发挥重要生态功能(梁宇等 2002)。宿主植物通过光合作用为 EMF 提供生长发育所需的碳源，而外生菌根则通过特有的形态结构(如菌丝等)扩大树木根系的吸收范围，促进植物对土壤养分和水分的吸收，增强植物的抗逆性，二者协同进化，互惠互利，共同维持森林生态系统的稳定性(郭良栋 2012; Long et al. 2016)。

马尾松 *Pinus massoniana* 是我国南方广泛分布的乡土先锋树种，也是贵州省森林面积排名第二的当家树种，具有适应性强、生长快、木材用途广、松脂产量高和易于成林等特点(周正贤 2001)。目前关于对马尾松 EMF 的研究主要涉及幼苗、林木以及混交林等生境类型，如郝嘉鑫等(2021)和涂晶晶等(2021)对马尾松幼苗 EMF 群

落特征进行研究，表明不同类型幼苗的 EMF 群落组成与结构存在差异；陈进(2020)研究了贵州马尾松林 EMF 群落随林龄的变化特征，表明 EMF 群落物种丰富度随林龄的增加而增加，不同林龄的马尾松 EMF 的优势属不同；Li et al. (2021)和王倩等(2021)对马尾松混交林下 EMF 群落特征展开研究，表明马尾松混交林下的 EMF 群落多样性最高。此外，目前有关森林火灾干扰对不同针叶树种的 EMF 群落影响的研究已有较多报道，如火灾对黄松 *Podocarpus imbricatus*、油松 *Pinus tabuliformis* 和海岸松 *Pinus pinaster* 等 EMF 群落的影响，结果表明 EMF 群落发生明显变异(Smith et al. 2004; Pulido-Chavez et al. 2021)，且火灾通常会减少菌根定殖率和真菌丰富度(Dove & Hart 2017)，这种影响的解释主要有两方面：一方面，火灾可以通过直接燃烧、植被破坏和土壤性质改变等多种方式影响 EMF 群落；另一方面，火灾后 EMF 群落类似于火灾前繁殖体群落的组成，新的 EMF 物种可能会在火灾干扰后成功入侵(Buscardo et al. 2011)。可见，森林干扰的不同类

型、强度和频率会造成森林生态系统的结构、生产力、演替动态,以及微生物与非生物土壤环境等发生改变(Pérez-Izquierdo *et al.* 2021)。综上所述,森林EMF群落可受宿主表型、林龄、生境、环境梯度以及干扰类型等多种因素的影响。目前有关黔中地区马尾松EMF群落特征的研究鲜有报道。因此,本研究以黔中地区火灾和未火灾(对照)马尾松林为研究对象,探讨火灾对马尾松EMF群落组成、结构及多样性的影响,从EMF的角度为火灾后马尾松林恢复提供理论基础,以期为马尾松林的科学管理与可持续经营提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

研究区域位于贵州省贵阳市花溪区孟关乡谷立村,地理位置 $26^{\circ}27'52.71''-26^{\circ}27'56.76''\text{N}$, $106^{\circ}45'55.33''-106^{\circ}46'6.49''\text{E}$ 。地貌以山地和丘陵为主,均属于亚热带季风湿润型气候,年平均气温 $15.0\text{ }^{\circ}\text{C}$,年均降水量 1100 mm ,年均相对湿度78%,无霜期276 d,土壤以黄壤和石灰土为主(张健等 2022)。区域植被主要以马尾松为优势乔木,灌木包括山茶 *Camellia japonica*、铁仔 *Myrsine Africana*、油茶 *Camellia oleifera*、菝葜 *Smilax china*、南烛 *Vaccinium bracteatum* 和茅栗 *Castanea mollissima* 等,草本主要包括五节芒 *Misanthus floridulus*、蕨 *Pteridium aquilinum*、里白 *Diplopterygium glaucum*、金毛狗 *Cibotium barometz* 和青绿苔草 *Carex breviculmis* 等。

表 1 样地基本信息

Table 1 Basic information of sample plots

| 样地 Sample | 经纬度 Latitude and longitude | 海拔 Altitude (m) | 坡度 Slope (°) | 坡向 Aspect | 火烧高度 Fire height (cm) |
|--------------|---|--------------------|-----------------|--------------|--------------------------|
| F1 | $106^{\circ}45'55.74''\text{E}, 26^{\circ}27'54.07''\text{N}$ | 1 176 | 10 | 东北 EN83° | 236 |
| F2 | $106^{\circ}45'55.33''\text{E}, 26^{\circ}27'52.86''\text{N}$ | 1 175 | 21 | 东南 ES15° | 204 |
| F3 | $106^{\circ}45'59.52''\text{E}, 26^{\circ}27'56.76''\text{N}$ | 1 171 | 15 | 西南 WS7° | 218 |
| NF1 | $106^{\circ}46'2.70''\text{E}, 26^{\circ}27'52.71''\text{N}$ | 1 135 | 16 | 东南 ES33° | 0 |
| NF2 | $106^{\circ}46'2.26''\text{E}, 26^{\circ}27'53.23''\text{N}$ | 1 137 | 17 | 东北 EN38° | 0 |
| NF3 | $106^{\circ}46'6.49''\text{E}, 26^{\circ}27'53.64''\text{N}$ | 1 136 | 20 | 东南 ES18° | 0 |

1.2 样地设置和样品采集

经查阅资料和实地勘察,2020年3月在贵阳市花溪区孟关乡谷立村发生火灾,过火面积约为 $322\ 667\text{ m}^2$,通过烧死树木占比、乔木熏黑高度以及林下灌木和凋落物烧毁程度,判定本研究中的火灾强度为中度火灾(Nielsen *et al.* 2009)。2020年10月在所选取的火灾和未火灾(对照)各3块马尾松林样地内建立 $20\text{ m}\times 20\text{ m}$ 植物调查样方,样地信息详见表1,对样方内所有乔木进行编号,然后在样方内随机选取10棵长势相当、胸径大小相近、相邻树木空间距离大于 2 m 且经历火灾后仍存活的马尾松植株,用索根法采集马尾松的根系样品,先用菌根刀清除表层的凋落物,找到主根,沿着主根伸展的方向寻找侧根,然后采集15–20 cm长度的细根放入自封袋中,将其编号,置于样品箱中保存,带回后用镊子立即处理根系样品上附着的泥土和杂质,加入干燥硅胶后置于 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

使用土钻按五点取样法在调查样方内随机采集土壤0–20 cm土层的混合样品,将土壤样品装入塑封袋,放入保鲜箱带回实验室。每个土壤样品经去掉石头等杂质、全部过 2 mm 孔径的土筛后,室内自然风干,再分别过 1 mm 和 0.25 mm 的筛子后用于土壤性质指标的测定,其测定方法参照张姣等(2021)的报道。

1.3 外生菌根的形态观察和分子鉴定

用镊子轻轻将根系样品取出,用剪刀将其剪成5–8 cm长的根段,将根段样品放入培养皿中用自来水反复清洗,除去表面的泥土,换上干净

培养皿，加入少许清水，置于体式显微镜(Motic China Group Co., Ltd, SMZ-171)下观察。根据菌根形态、颜色、分枝数、有无菌丝及菌丝的颜色和形态等特征，对菌根进行初步分类，记录每种类型菌根的形态特征和数量并对其进行拍照。准备 1.5 mL 的离心管，并加入 0.1 mL 的无菌水，然后挑取每种形态的 3 个菌根根尖分别放入 3 个离心管中(3 个重复)，放入-20 ℃冰箱保存。

采用改进的十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法提取外生菌根真菌 DNA(陈进 2020)。用提取到并溶解完全的 DNA 产物作为模板，以 ITS-1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 以及 ITS-4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 作为引物对外生菌根真菌 rDNA-ITS 进行 PCR 扩增，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)有限公司进行测序。

1.4 数据分析

所测序列采用 BLAST 在 NCBI 数据库进行比对，序列相似性 97% 进行 OTU 划分，并借助 MEGA 6.0 软件运用邻接法对所测序列在种的水平上进行进化地位分析，确定其物种名。采用 Microsoft Excel 2019 对数据进行初步整理与作图，采用 SPSS 25 软件中配对样本 *t* 检验对土壤性质的数据进行分析，显著水平设置为 *P*<0.05；使用联川生物云平台制作 Venn 图，分析火灾与未火灾马尾松林 EMF 群落的特有种和共有种数量；相似性指数计算公式为 $C_j=j/(a+b-j)$ (其中 *j* 为火灾样地与未火灾样地的共有物种数，*a* 为火灾样地的物种数，*b* 为未火灾样地的物种数)(方精云等 2009)；利用 Canoco 5.0 软件进行冗余分析(RDA)，研究土壤环境因子与 EMF 之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 火灾干扰下马尾松林土壤性质

林火干扰通过改变土壤理化性质进而影响土壤生态系统功能。火灾干扰下马尾松林土壤性

质分析(表 2)表明：火灾干扰下，除 pH、有效磷和有效钾含量升高外，其余化学性质均表现为降低，且有机碳和有效磷含量无显著性差异(*P*>0.05)；马尾松林土壤酶活性降低，且脲酶活性有显著性差异(*P*<0.05)。因此，火灾干扰会对马尾松林土壤性质产生影响。

表 2 火灾干扰下马尾松林土壤性质

Table 2 Soil properties of *Pinus massoniana* forest under fire disturbance

| 指标 Measurement index | 火灾 Fire | 未火灾 Non-fire |
|-------------------------|-------------|-----------------|
| pH | 4.70±0.03a | 4.37±0.04b |
| 有机碳 SOC (g/kg) | 31.00±3.75a | 33.00±0.40a |
| 全氮 TN (g/kg) | 6.07±0.64b | 8.66±0.21a |
| 全磷 TN (g/kg) | 0.38±0.01b | 0.53±0.02a |
| 有效氮 AN (mg/kg) | 61.50±6.82b | 80.68±4.07a |
| 有效磷 AP (mg/kg) | 12.65±1.20a | 11.93±1.23a |
| 有效钾 | 26.78±2.56a | 20.33±0.62b |
| AK (mg/kg) | | |
| 脲酶 | 0.21±0.01b | 0.30±0.03a |
| Urease [mg/(g·h)] | | |
| 过氧化氢酶 | 1.17±0.05a | 1.26±0.01a |
| Catalase [mL/(g·d)] | | |

Note: SOC: Soil organic carbon; TN: Total nitrogen; AN: Available nitrogen; AP: Available phosphorus; AK: Available potassium. Different lowercase letters indicate significant difference.

2.2 火灾干扰下马尾松外生菌根真菌群落组成

火灾干扰下马尾松 EMF OTUs-采样数量的累计曲线(图 1A)表明，随着采样数量的增加，OTU 数增加且逐渐趋于平缓，说明采样量能基本覆盖样地内 EMF 群落的真实情况。在 OTUs 水平上绘制 Venn 图(图 1B)，火灾干扰下有 38 个 OTUs，未火灾样地内有 47 个 OTUs，火灾与未火灾样地内共有 OTUs 为 16 个(23.19%)，特有 OTUs 分别有 22 和 31 个，占比分别为 31.88% 和 44.93%。共有 OTUs 表示真菌类群在火灾与未火灾情况下始终存在，而火灾下特有 OTUs 的存在可能是适应干扰的结果。

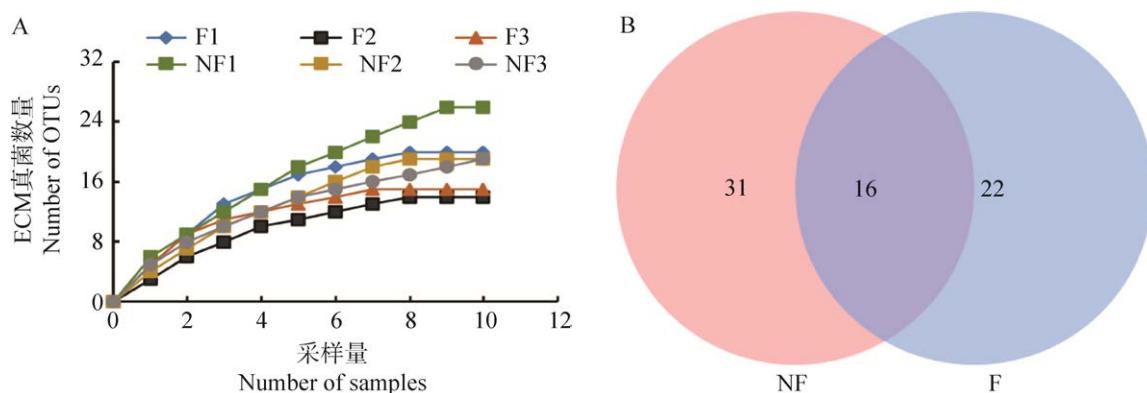


图 1 火灾干扰下马尾松林外生菌根真菌物种累计曲线(A)和 Venn 图(B)

Fig. 1 Species accumulation curve (A) and Venn diagram (B) of ectomycorrhizal fungi in *Pinus massoniana* forest under fire disturbance. F: Fired plots; NF: Unfired plots. The same below.

本研究共鉴定马尾松 EMF 69 个 OTUs, 隶属 2 门 7 纲 15 目 18 科 23 属(表 3)。火灾与未火灾马尾松林 EMF 群落中担子菌门和子囊菌门的比例分别约为 2:1 和 5:1(图 2A), 这表明火灾干扰下马尾松林 EMF 群落子囊菌门物种丰富度占比增加。火灾与未火灾马尾松林 EMF 群落间属

水平上的组成结构存在明显差异(图 2B), 火灾马尾松林中 EMF 群落优势属为蜡蘑属 *Laccaria*, 其次是红菇属 *Russula* 和棉革菌属 *Tomentella*, 未火灾马尾松林 EMF 群落优势属为乳菇属 *Lactarius* 和棉革菌属 *Tomentella*。结果表明火灾显著地改变了马尾松林 EMF 群落组成和结构。

表 3 火灾干扰下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 *Pinus massoniana* ectomycorrhizal root tip under fire interference

| 序号 Number | 分类 Classification (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 | <i>Amanita fritillaria</i> | 670 | KM052533 | 97.32 |
| 2 | <i>Amanita subglobosa</i> | 696 | KX810031 | 99.39 |
| 3 | <i>Amphinema</i> sp. 1 | 642 | MG707565 | 98.60 |
| 4 | <i>Amphinema</i> sp. 2 | 566 | LC013706 | 99.65 |
| 5 | <i>Archaeorhizomyces</i> | 560 | NR_126144 | 99.19 |
| 6 | <i>Auriculariales</i> sp. | 572 | MG707447 | 98.43 |
| 7 | <i>Cenococcum geophilum</i> | 1 020 | LC095184 | 98.53 |
| 8 | <i>Cenococcum</i> sp. 1 | 538 | MT366777 | 98.16 |
| 9 | <i>Clavulina</i> sp. 1 | 669 | JX287357 | 90.44 |
| 10 | <i>Clavulina coraloides</i> | 658 | KC505583 | 99.39 |
| 11 | <i>Clavulina cristata</i> | 686 | KJ411952 | 98.52 |
| 12 | <i>Cortinarius circinans</i> | 612 | MT934964 | 97.64 |
| 13 | <i>Cortinarius</i> sp. 1 | 626 | MT934968 | 97.54 |
| 14 | <i>Cortinarius</i> sp. 2 | 703 | KT833622 | 94.16 |
| 15 | <i>Helotiales</i> sp. 1 | 567 | MG707580 | 97.88 |
| 16 | <i>Helotiales</i> sp. 2 | 548 | KX440137 | 100.00 |
| 17 | <i>Helotiales</i> sp. 3 | 540 | JX243904 | 95.64 |
| 18 | <i>Hyaloscyphaceae</i> sp. | 581 | MN328297 | 99.61 |
| 19 | <i>Hypocreopsis</i> sp. | 615 | MN905771 | 98.54 |
| 20 | <i>Inocybe</i> sp. 1 | 605 | MT237516 | 91.40 |

待续

续表 3

| | | | | |
|----|---------------------------------------|-----|------------|--------|
| 21 | <i>Inocybe</i> sp. 2 | 588 | MF797861 | 92.83 |
| 22 | <i>Inocybe</i> sp. 3 | 586 | MN947362 | 92.88 |
| 23 | <i>Laccaria aurantia</i> | 659 | MT678874 | 99.38 |
| 24 | <i>Laccaria</i> sp. 1 | 682 | MW874516 | 99.26 |
| 25 | <i>Laccaria</i> sp. 2 | 603 | NR_154113 | 90.23 |
| 26 | <i>Lactarius hatsudake</i> | 713 | MZ310484 | 100.00 |
| 27 | <i>Lactarius kesiyae</i> | 736 | KF432994 | 99.44 |
| 28 | <i>Lactarius parallelus</i> | 690 | MH984997 | 99.42 |
| 29 | <i>Lactarius</i> sp. 1 | 723 | MW874522 | 99.30 |
| 30 | <i>Lactarius</i> sp. 2 | 641 | KP866125 | 92.91 |
| 31 | <i>Lactarius</i> sp. 3 | 653 | KP866125 | 93.73 |
| 32 | <i>Leptodontidium</i> sp. | 544 | KU176259.1 | 99.08 |
| 33 | <i>Odontia</i> sp. | 673 | MK602775 | 96.90 |
| 34 | Parmeliaceae sp. | 549 | GQ240938.1 | 99.64 |
| 35 | <i>Phialocephala fortinii</i> | 558 | MK841836 | 98.75 |
| 36 | <i>Pseudotomentella rhizopunctata</i> | 728 | KR019815 | 98.63 |
| 37 | <i>Pseudotomentella tristis</i> | 746 | GQ267480 | 98.23 |
| 38 | <i>Russula adusta</i> | 610 | MT522567 | 98.49 |
| 39 | <i>Russula</i> sp. 1 | 718 | MZ068163 | 93.44 |
| 40 | <i>Russula</i> sp. 2 | 708 | MK770275 | 98.89 |
| 41 | <i>Russula</i> sp. 3 | 708 | MW874545 | 99.29 |
| 42 | <i>Russula substriata</i> | 655 | MH724921 | 99.69 |
| 43 | <i>Russula vesca</i> | 722 | HM189953 | 98.32 |
| 44 | <i>Sebacina</i> sp. 1 | 646 | KY346535 | 97.00 |
| 45 | <i>Sebacina</i> sp. 2 | 645 | KY346535 | 95.22 |
| 46 | <i>Sebacina</i> sp. 3 | 631 | KY346535 | 95.60 |
| 47 | <i>Sebacina</i> sp. 4 | 596 | JF273541 | 99.16 |
| 48 | <i>Sebacina</i> sp. 5 | 610 | FN669246 | 95.53 |
| 49 | <i>Sebacinales</i> sp. | 591 | AB873204 | 98.82 |
| 50 | Sebacinaceae sp. | 622 | AB688992 | 97.56 |
| 51 | <i>Sphaerospora</i> sp. | 619 | MW476527 | 98.38 |
| 52 | <i>Suillus luteus</i> | 657 | MW855919 | 100.00 |
| 53 | <i>Thelephora</i> sp. | 570 | GQ900540 | 99.65 |
| 54 | Thelephoraceae sp. 1 | 634 | MK770303 | 98.40 |
| 55 | Thelephoraceae sp. 2 | 603 | KX899618 | 96.03 |
| 56 | Thelephoraceae sp. 3 | 677 | KP403044 | 96.56 |
| 57 | Thelephoraceae sp. 4 | 663 | AB634271 | 99.22 |
| 58 | Thelephoraceae sp. 5 | 637 | FJ196988 | 96.55 |
| 59 | <i>Tomentella</i> sp. 1 | 625 | GQ240906 | 99.84 |
| 60 | <i>Tomentella</i> sp. 2 | 647 | MT678906 | 99.22 |
| 61 | <i>Tomentella</i> sp. 3 | 644 | EU529972 | 98.76 |
| 62 | <i>Tomentella</i> sp. 4 | 646 | KY686250 | 91.86 |
| 63 | <i>Tomentella stuposa</i> | 646 | MT522582 | 99.68 |
| 64 | <i>Tomentella sublilacina</i> | 628 | MT678912 | 99.84 |
| 65 | <i>Trichoderma</i> sp. 1 | 592 | KU141253 | 99.16 |
| 66 | <i>Trichoderma</i> sp. 2 | 608 | MK870996 | 99.67 |
| 67 | <i>Tylospora</i> sp. | 647 | KF007260 | 99.65 |
| 68 | <i>Venturia</i> sp. | 529 | MT522585 | 99.81 |
| 69 | Venturiaceae sp. | 514 | KC876286 | 97.47 |

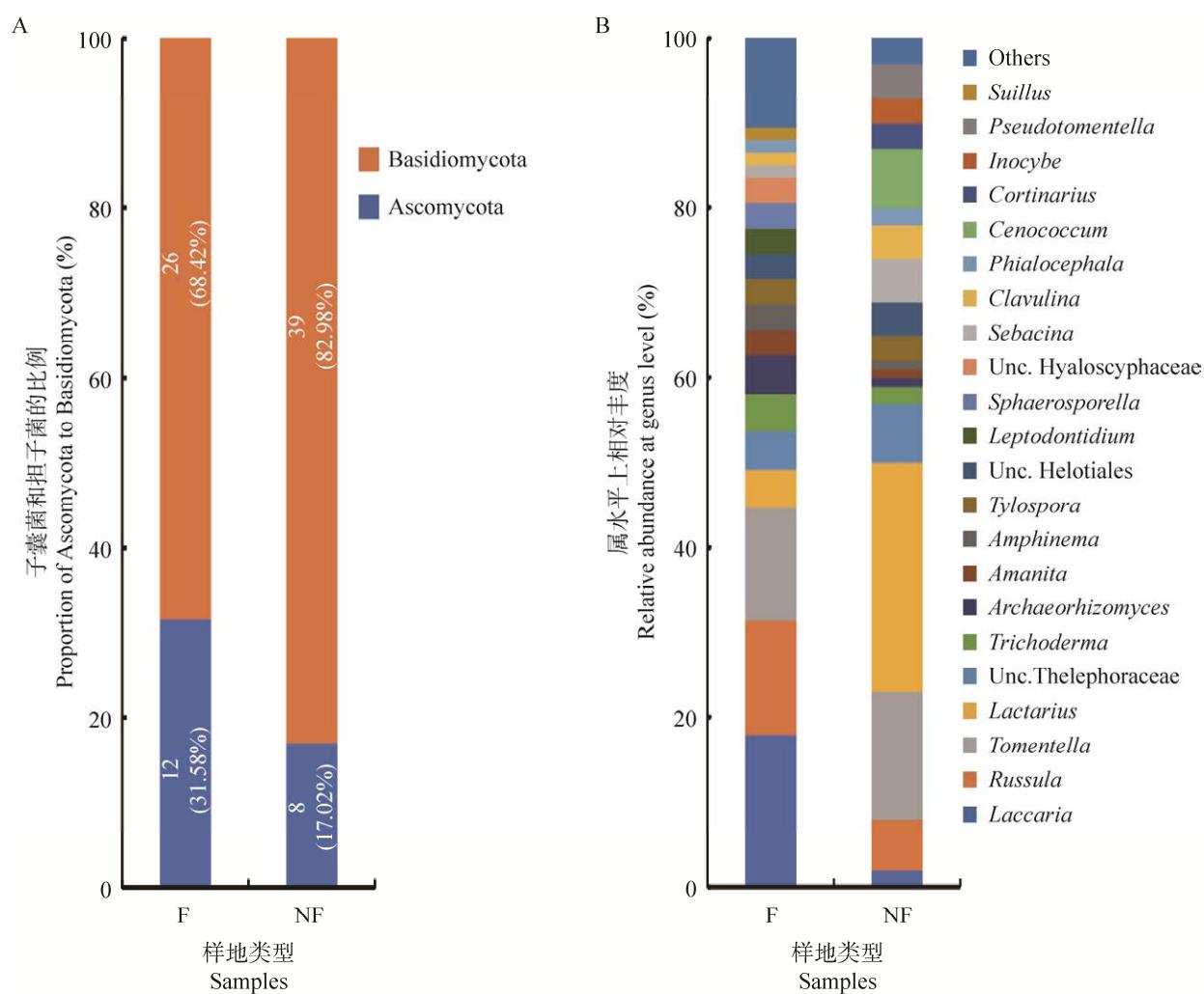


图 2 火灾干扰下马尾松林外生菌根真菌担子菌、子囊菌比例图(A)和属水平上群落组成与相对丰度图(B)

Fig. 2 Diagram of the ratio of ectomycorrhizal basidiomycetes to ascomycetes in *Pinus massoniana* forest under fire disturbance (A) and diagram of community composition and relative abundance at the genus level (B).

2.3 火灾干扰下马尾松外生菌根真菌 α 多样性

火灾与未火灾马尾松林 EMF 群落 α 多样性指数间存在一定差异(表 4), 表现为除 Simpson 指数外, 火灾马尾松林 EMF 群落的 Sobs 指数、Shannon 指数和 Chao 1 指数均低于对照样地,

且 Sobs 指数存在显著性差异($P<0.05$), 表明火灾降低了马尾松林 EMF 群落的多样性和丰富度。通过 Jaccard 相似性系数分析火灾样地与未火灾样地内马尾松 EMF 群落的相似性指数为 0.16, 表明二者 EMF 群落间相似性较低。

表 4 火灾干扰下马尾松林外生菌根真菌的 α 多样性指数和 Jaccard 相似性系数

Table 4 Alpha diversity index and Jaccard similarity coefficient of ectomycorrhizal fungi in *Pinus massoniana* forest under fire disturbance

| 样地 Samples | 物种数 Sobs | 香农指数 Shannon index | 辛普森指数 Simpson index | Chao1 指数 Chao1 index | 相似性指数 Jaccard index |
|---------------|------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|
| 火烧 Fired | 16.33 ± 1.86 b | 2.67 ± 0.09 a | 0.04 ± 0.01 a | 39.44 ± 13.10 a | |
| 未火烧 Unfired | 21.67 ± 2.67 a | 2.88 ± 0.13 a | 0.04 ± 0.01 a | 45.31 ± 6.92 a | 0.16 |

2.4 外生菌根真菌群落结构和土壤理化性质的相关分析

为分析环境因子对马尾松 EMF 群落结构的潜在影响,选取土壤环境因子与群落属水平上的物种进行冗余分析(RDA) (图 3), 第一轴的解释量为 63.74%, 第二轴为 14.09%, 表明前两轴可以解释各因子对 EMF 群落的影响。火灾与未火灾样地明显分离(图 3A), 环境因子对马尾松林

EMF 影响大小分别为: pH>TP>urease>SOC>TN>catalase>AK>AP>AN (图 3B), 其中 pH 和 TP 对 EMF 群落有显著影响($P<0.05$), *Russula* 与 AK、AP、SOC 和 TN 呈正相关, *Laccaria* 与 pH、AK、AP 和 SOC 呈正相关, *Lactarius*、*Tomentella* 与 pH 和 AK 呈负相关, 与其他环境因子呈正相关。且火灾与未火灾样地环境因子对 EMF 的影响存在差异(图 3C, 3D)。

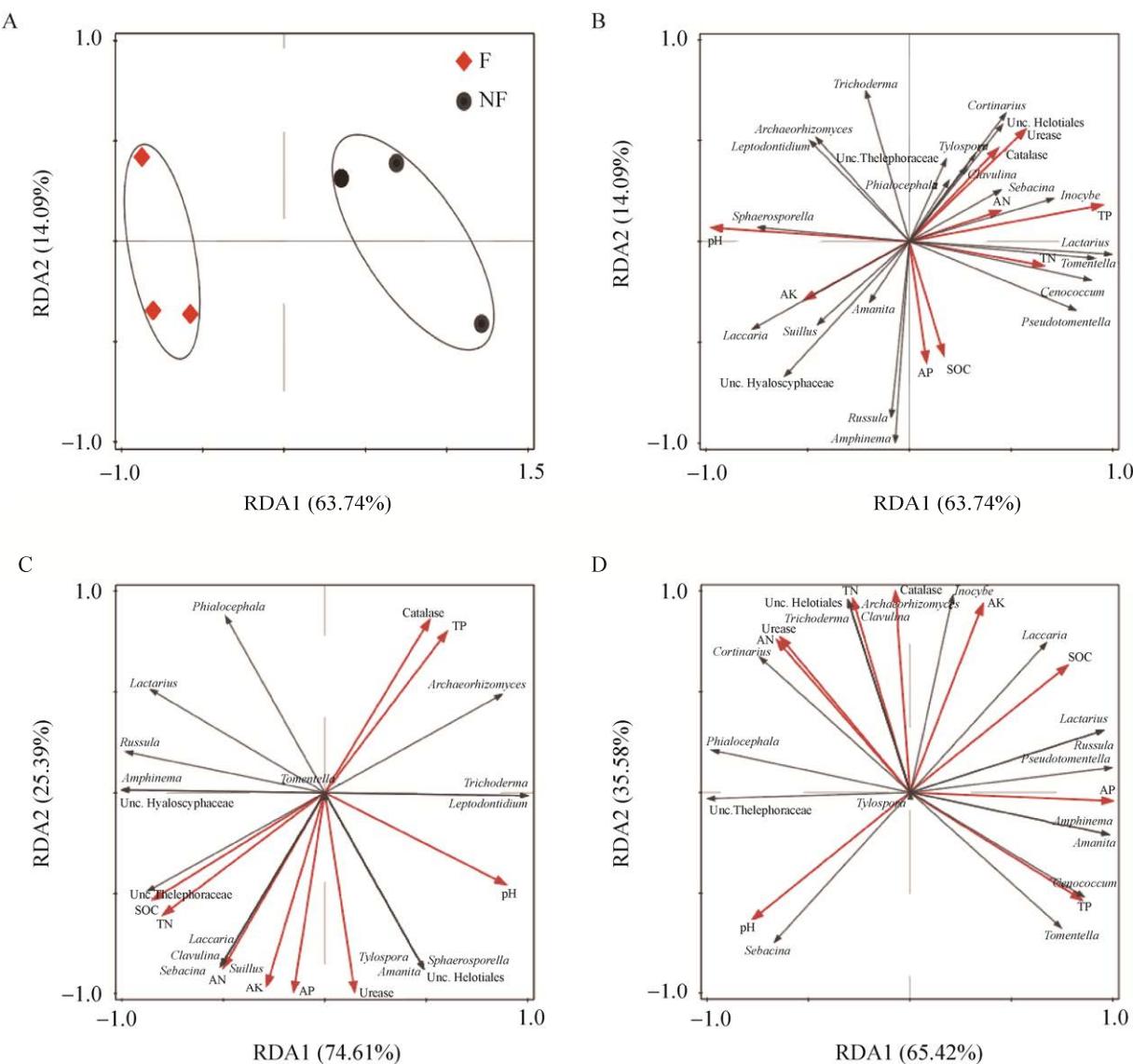


图 3 土壤因子与马尾松外生菌根真菌群落间 RDA 分析 A: 样地排序; B: 火灾与未火灾马尾松 EMF 群落影响因子排序; C: 火灾马尾松林样地; D: 未火灾马尾松林样地

Fig. 3 RDA analysis between soil factors and ectomycorrhizal fungi communities of *Pinus massoniana*. A: Ranking of sample plots; B: Ranking of influencing factors of EMF community of *P. massoniana* in fired and unfired plots; C: Fired *P. massoniana* forest plot; D: Unfired *P. massoniana* forest plot.

3 讨论与结论

EMF 在森林生态系统中分布广泛,不仅可以促进植物生长,而且可以提高植物的抗病性和抗逆性(Garcia et al. 2016)。本研究针对火灾对马尾松 EMF 群落多样性影响开展调查研究,共鉴定出与马尾松共生 EMF 69 个 OTUs,隶属于 2 门 7 纲 15 目 18 科 23 属。火灾与未火灾马尾松林 EMF 群落中担子菌门和子囊菌门的比例约为 2:1 和 5:1, 担子菌的数量明显高于子囊菌, 这与已有的黄松 EMF 影响的研究结果一致(Dejene et al. 2017), 且火灾后马尾松林 EMF 群落子囊菌的占比增加。已有研究表明, 火灾后土壤中 EMF 繁殖体的持续存在对苗木的存活和后期再生至关重要, 在短期内(<5 年), 土壤 EMF 群落对火灾反应强烈, 最显著的变化是担子菌门与子囊菌门的数量, 与本研究结果相一致(Yang et al. 2020)。担子菌门的占比明显高于子囊菌门, 体现了担子菌门真菌在马尾松林土壤中的优势地位和重要作用。

EMF 是植物-土壤-微生物反馈中的关键角色, 其会对宿主生理、植物群落动态和生态系统等过程产生影响, 而且在不断变化的环境中, EMF 群落的恢复在干扰后森林的演替和恢复中发挥重要作用(Bowman et al. 2021)。已有研究表明, 中、高强度火烧会降低 EMF 群落物种丰富度, 影响 EMF 群落组成与结构, 引起一些 EMF 物种频率的改变, 甚至物种更替(Pulido-Chavez et al. 2021)。本研究通过 Venn 图分析火灾与未火灾马尾松林 EMF 群落特有种和共有种数分别是 22、31 和 16, 火灾干扰下 OTUs 数量下降, 且特有 OTUs 高于共有 OTUs, 这与 α 多样性分析结果一致, 表明火灾影响了马尾松 EMF 群落的多样性、物种组成和数量。未火灾马尾松林 EMF 群落优势属为乳菇属 *Lactarius* 和棉革菌属 *Tomentella*; 而火灾马尾松林 EMF 群落的优势属

为蜡蘑属 *Laccaria*, 其次是红菇属 *Russula* 和棉革菌属 *Tomentella*, 这表明火灾可明显地改变马尾松 EMF 群落的组成与结构。已有研究表明火灾下黄松的优势属为威氏盘菌属 *Wilcoxina* 和须腹菌属 *Rhizopogon* 等, 与马尾松 EMF 群落结构与组成存在差异(Pulido-Chavez et al. 2021), 说明 EMF 群落结构与组成因宿主不同会存在差异。也有研究表明 *Russula* (Ingeborg et al. 2005)、*Tomentella* (Tedersoo et al. 2014) 可与多种植物形成 EMF, 在世界上广泛分布, 是 EMF 群落的重要组成; 赵燕珍等(2021)对黔中地区马尾松林下菌根菌的研究表明 *Lactarius* 也是常见的 EMF。火灾可导致不同真菌群落的选择性死亡, 而嗜热真菌能在火灾影响的环境下生存, 甚至可能会占据一定的优势地位, 因此火灾可以通过选择性热诱导真菌死亡而改变土壤微生物群落(Li et al. 2021)。本研究中 *Tomentella* 是火灾与未火灾马尾松林 EMF 群落的优势属, 这可能与 *Tomentella* 对火灾环境的适应及生物学特性密切关联。

土壤作为植物根系与土壤真菌的纽带, 是形成 EMF 不可或缺的部分, 通过对火灾马尾松土壤性质的研究表明, 火灾后马尾松林土壤 pH 和有效钾含量增加, 全氮、全磷和有效氮含量显著降低, 因为火灾使土壤高温持续时间长, 部分养分经燃烧后从有机态转变为无机态而挥发; 其次, 烧毁迹地植被更新需要大量养分, 使得土壤养分含量降低(Xue et al. 2014; 刘冠宏等 2019)。但也有研究结果表明(刘发林等 2019), 火烧后土壤养分含量增加, 因为火烧加速林下凋落物和植被的分解, 使表层土壤的有机质和其他元素含量积累。已有研究表明, 火灾严重程度、植被类型、土壤条件、土壤湿度和气候条件等是影响 EMF 变化的潜在驱动因素(Yang et al. 2020), 本研究通过对 EMF 群落与土壤性质的相关性分析, 表明土壤 pH 和 TP 对 EMF 群落有显著影响, 与已有结果基本一致(张彤彤等 2018)。该研究

区域的土壤 pH 为 4.0–5.0, 酸性环境有利于真菌的生存; 磷元素易与铁、铝等氢氧化合物及其离子形成不溶性的磷化合物沉淀, 难以被植物吸收利用, 土壤中磷元素是决定菌根真菌发育和侵染的关键因子, 菌丝会通过分泌物(如糖类、有机酸和氨基酸等)招募溶磷细菌在菌丝表面定殖, 刺激其生长, 所以土壤中的磷元素是影响 EMF 群落的主要因素之一(包甜甜和张鼎华 2019)。因此表明火灾不仅对地上植被群落产生影响, 也是影响马尾松 EMF 群落的重要生态因子。

[REFERENCES]

- Bao TT, Zhang DH, 2019. Phosphorus availability of red soil and its relation with tree growth in mountainous region of Southern China. *Journal of Fujian Normal University (Natural Science Edition)*, 35(2): 97-103 (in Chinese)
- Bowman EA, Hayden DR, Arnold AE, 2021. Fire and local factors shape ectomycorrhizal fungal communities associated with *Pinus ponderosa* in mountains of the Madrean Sky Island Archipelago. *Fungal Ecology*, 49: 101013
- Brundrett MC, Tedersoo L, 2018. Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, 220(4): 1108-1115
- Buscardo E, Freitas H, Pereira JS, Angelis PD, 2011. Common environmental factors explain both ectomycorrhizal species diversity and pine regeneration variability in a post-fire Mediterranean forest. *Mycorrhiza*, 21(6): 549-558
- Chen J, 2020. Diversity and distribution of ectomycorrhizal fungi of *Pinus massoniana* in Guizhou. Master Thesis, Guizhou University, Guiyang. 1-57 (in Chinese)
- Dejene T, Oria-de-Rueda JA, Martín-Pinto P, 2017. Fungal diversity and succession following stand development in *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. & Cham. plantations in Ethiopia. *Forest Ecology & Management*, 395: 9-18
- Dove NC, Hart SC, 2017. Fire reduces fungal species richness and *in situ* mycorrhizal colonization: a meta-analysis. *Fire Ecology*, 13(2): 37-65
- Fang JY, Wang XP, Shen ZH, Tang ZY, He JS, Yu D, Jiang Y, Wang ZH, Zheng CY, Zhu JL, Guo ZD, 2009. Methods and protocols for plant community inventory. *Biodiversity Science*, 17(6): 533-548 (in Chinese)
- Garcia K, Doidy J, Zimmermann SD, Wipf D, Courty PE, 2016. Take a trip through the plant and fungal transportome of mycorrhiza. *Trends in Plant Science*, 21(11): 937-950
- Guo LD, 2012. Progress of microbial species diversity research in China. *Biodiversity Science*, 20(5): 572-580 (in Chinese)
- Hao JX, Tong FP, Zhao M, Li G, Liu ZH, Bai SL, 2021. Ectomycorrhizal fungal community structure characteristics of *Pinus massoniana* seedlings bred by root production method and ordinary breeding method. *Mycosistema*, 40(7): 1617-1626 (in Chinese)
- Ingeborg H, Michael W, Jürgen H, Franz O, Ingrid K, 2005. Russulaceae and Thelephoraceae form ectomycorrhizas with members of the Nyctaginaceae (Caryophyllales) in the tropical mountain rain forest of southern Ecuador. *New Phytologist*, 165: 923-936
- Li XJ, Kang WS, Liu S, Yin HF, Lyu Q, Su Y, Liu JJ, Fan C, Chen G, Zhao KJ, Li XW, 2021. Diversity of ectomycorrhizal fungal communities in four types of stands in *Pinus massoniana* plantation in the west of China. *Forests*, 12(6): 1-17
- Liang Y, Guo LD, Ma KP, 2002. The role of mycorrhizal fungi in ecosystems. *Acta Phytoecologica Sinica*, 26(6): 739-745 (in Chinese)
- Liu FL, Chen XW, Zeng SP, 2019. Effects of fire disturbance on soil physiochemical properties in *Liquidambar formosana* secondary forest. *Journal of Soil and Water Conservation*, 33(5): 132-138 (in Chinese)
- Liu GH, Li BY, Gong DP, Li WK, Liu XD, 2019. Effects of forest fire on soil chemical properties of *Pinus tabuliformis* forest in Pinggu District of Beijing. *Journal of Beijing Forestry University*, 41(2): 29-40 (in Chinese)
- Long DF, Liu JJ, Han QS, Wang XB, Huang J, 2016. Ectomycorrhizal fungal communities associated with *Populus simonii* and *Pinus tabuliformis* in the hilly-gully region of the Loess Plateau, China. *Scientific Reports*, 6: 24336
- Nielsen DC, Vigil MF, Benjamin JG, 2009. The variable response of dry land corn yield to soil water content at planting. *Agricultural Water Management*, 96(2): 330-336
- Pérez-Izquierdo L, Clemmensen KE, Strengbom J, Granath G, Wardle DA, Nilsson M, Lindahl BD, 2021. Crown-fire severity is more important than ground-fire severity in determining soil fungal community development in the boreal forest. *Journal of Ecology*, 109: 504-518
- Pulido-Chavez MF, Alvarado EC, Deluca TH, Edmonds RL, Glassman SI, 2021. High-severity wildfire reduces richness and alters composition of ectomycorrhizal fungi in low-severity adapted ponderosa pine forests. *Forest Ecology and Management*, 485: 118923
- Smith JE, McKay D, Niwa CG, Thies WG, Brenner G, Spatafora JW, 2004. Short-term effects of seasonal

- prescribed burning on the ectomycorrhizal fungal community and fine root biomass in *ponderosa pine* stands in the blue mountains of Oregon. Canadian Journal of Forest Research, 34: 2477-2491
- Tedersoo L, Bahram M, Pöhlme S, et al., 2014. Global diversity and geography of soil fungi. Science, 346(6213): 1256688
- Tu JJ, Wu F, Sun XG, Wang HY, Shi CS, 2021. Community structure characteristics of ectomycorrhizal fungi in different leaf type seedlings of *Pinus massoniana*. Mycosistema, 40(1): 124-134 (in Chinese)
- Wang Q, Li ZS, Yang FC, Chen B, Liang JF, Lu JK, 2021. Mycorrhizosphere microbial community structure of *Castanopsis hystrix* and *Pinus massoniana* mixed plantation in Pingxiang, Guangxi of South China. Mycosistema, 40(6): 1343-1356 (in Chinese)
- Xue L, Li QJ, Chen HY, 2014. Effects of a wildfire on selected physical, chemical and biochemical soil properties in a *Pinus massoniana* forest in South China. Forests, 5(12): 2947-2966
- Yang T, Tedersoo L, Lin XW, Fitzpatrick MC, Jia YS, Liu X, Ni YY, Shi Y, Lu PP, Zhu JG, Chu HY, 2020. Distinct fungal successional trajectories following wildfire between soil horizons in a cold-temperate forest. New Phytologist, 227(2): 572-587
- Zhang J, Xu M, Wen CY, Nie K, Zhang J, 2021. Effects of different disturbances on the soil properties of *Pinus massoniana* forest in central Guizhou. Journal of Soil and Water Conservation, 35(6): 135-143 (in Chinese)
- Zhang J, Xu M, Wu LF, Wen CY, Zhang J, Nie K, 2022. Effects of different disturbance types on the glomalin-related soil protein of *Pinus massoniana* forests in central Guizhou. Journal of Forest and Environment, 42(1): 63-70 (in Chinese)
- Zhang TT, Geng ZC, Xu CY, Zhang XP, Du C, Wang ZK, Wang Q, Han H, Lin Y, 2018. Diversity of ectomycorrhizal fungi associated with *Larix gmelinii* in Xinjiashan forest region of Qinling Mountains. Acta Microbiologica Sinica, 58(3): 443-454 (in Chinese)
- Zhao YZ, Sun XG, Feng JW, Guo QQ, 2021. Diversity of edible mycorrhizal fungi in *Pinus massoniana* forests of central Guizhou, Southwest China. Mycosistema, 40(1): 108-123 (in Chinese)
- Zhou ZX, 2001. Masson pine in China. China Forestry Publishing House, Beijing. 1-200 (in Chinese)
- [附中文参考文献]
- 包甜甜, 张鼎华, 2019. “近自然抚育”对南方山地幼林地土壤磷有效性的影响. 福建师范大学学报(自然科学版), 35(2): 97-103
- 陈进, 2020. 贵州马尾松外生菌根真菌多样性及分布特征研究. 贵州大学硕士论文, 贵阳. 1-57
- 方精云, 王襄平, 沈泽昊, 唐志尧, 贺金生, 于丹, 江源, 王志恒, 郑成洋, 朱江玲, 郭兆迪, 2009. 植物群落清查的主要内容、方法和技术规范. 生物多样性, 17(6): 533-548
- 郭良栋, 2012. 中国微生物物种多样性研究进展. 生物多样性, 20(5): 572-580
- 郝嘉鑫, 童方平, 赵敏, 李贵, 刘振华, 白淑兰, 2021. 马尾松根生产苗与常规苗外生菌根真菌多样性特征. 菌物学报, 40(7): 1617-1626
- 梁宇, 郭良栋, 马克平, 2002. 菌根真菌在生态系统中的作用. 植物生态学报, 26(6): 739-745
- 刘发林, 陈小伟, 曾素平, 2019. 不同火干扰强度对枫香次生林土壤理化性质的影响. 水土保持学报, 33(5): 132-138
- 刘冠宏, 李炳怡, 宫大鹏, 李伟克, 刘晓东, 2019. 林火对北京平谷区油松林土壤化学性质的影响. 北京林业大学学报, 41(2): 29-40
- 涂晶晶, 吴峰, 孙学广, 王好运, 石长双, 2021. 马尾松不同叶型幼苗外生菌根真菌群落特征. 菌物学报, 40(1): 124-134
- 王倩, 李振双, 杨富成, 陈彬, 梁俊峰, 陆俊锟, 2021. 广西凭祥红锥-马尾松混交林菌根际微生物群落结构. 菌物学报, 40(6): 1343-1356
- 张健, 徐明, 吴丽丰, 文春玉, 张姣, 聂坤, 2022. 干扰对黔中地区马尾松林土壤球囊霉素的影响. 森林与环境学报, 42(1): 63-70
- 张姣, 徐明, 文春玉, 聂坤, 张健, 2021. 黔中地区不同干扰对马尾松林土壤性质的影响. 水土保持学报, 35(6): 135-143
- 张彤彤, 耿增超, 许晨阳, 张晓鹏, 杜璨, 王志康, 王强, 韩欢, 林云, 2018. 秦岭辛家山林区落叶松外生菌根真菌多样性. 微生物学报, 58(3): 443-454
- 赵燕珍, 孙学广, 冯婧玮, 郭其强, 2021. 黔中地区马尾松林菌根食用菌多样性. 菌物学报, 40(1): 108-123
- 周正贤, 2001. 中国马尾松. 北京: 中国林业出版社. 1-200