

DOI: 10.11766/trxb201611110479

长期种植毛竹林土壤丛枝菌根真菌群落演变趋势*

牛利敏^{1, 2} 秦 华^{1, 2†} 徐秋芳^{1, 2} 邬奇峰³ 苗惊婧^{1, 2} 彭定聪^{1, 2}

(1 浙江农林大学环境与资源学院, 浙江临安 311300)

(2 浙江省森林生态系统碳循环与固碳减排重点实验室, 浙江临安 311300)

(3 浙江省临安市农业技术推广中心, 浙江临安 311300)

摘 要 为揭示长期种植毛竹林土壤丛枝菌根 (Arbuscular mycorrhizae, AM) 真菌群落演变特征, 通过磷脂脂肪酸 (Phospholipid fatty acid, PLFA) 和 Illumina Miseq 测序平台研究了 AM 真菌生物量及群落结构的演变趋势。结果表明, 长期种植毛竹林土壤养分含量总体呈下降趋势, 球囊霉素相关土壤蛋白 (Glomalin-related soil protein, GRSP) 含量及 AM 真菌生物量也显著降低 ($p < 0.05$), 其中易提取态球囊霉素相关土壤蛋白 (Easily extractable glomalin-related soil protein, EE-GRSP) 含量与有机质、碱解氮、速效钾显著正相关 ($p < 0.05$), 而 AM 真菌菌丝生物量 (16:1ω5 PLFA) 与碱解氮极显著正相关 ($p < 0.01$)。长期种植毛竹林显著降低了土壤 2~0.25 mm 大团聚体比例 ($p < 0.05$), 且与 AM 真菌菌丝生物量极显著正相关 ($p < 0.01$)。测序结果表明, 毛竹林土壤 AM 真菌以球囊霉属 (*Glomus*) 为优势种群, 其次为无梗囊霉属 (*Acaulospora*), 长期种植毛竹后土壤球囊霉属相对丰度显著增加而无梗囊霉属显著降低 ($p < 0.05$)。非度量多维尺度转换排序 (Non-metric multidimensional scaling, NMDS) 分析显示, 对照马尾松林与不同种植年限毛竹林土壤 AM 真菌群落显著区分 ($p=0.001$), 土壤含水量 ($p=0.005$)、碱解氮 ($p=0.001$)、有效磷 ($p=0.014$) 对 AM 真菌群落结构变异具有重要贡献。长期种植毛竹显著降低了 AM 真菌生物量、球囊霉素相关土壤蛋白含量以及 2~0.25 mm 大团聚体比例, 并改变了 AM 真菌群落结构, 不利于土壤碳固存和维持生态系统稳定。

关键词 丛枝菌根真菌; 毛竹林; 群落结构; 磷脂脂肪酸

中图分类号 S154 **文献标识码** A

毛竹 (*Phyllostachys edulis*) 是我国分布最广、面积最大和经济价值最高的竹种之一, 占全国竹林面积 70% 左右, 并且面积还在不断扩大^[1]。毛竹每年通过地下鞭根向周边扩展, 产生新的竹林, 加上其较高的经济效益驱使一些地区将天然林改造为毛竹林, 导致毛竹林范围不断扩张。毛竹林具有重要的生态作用, 如保护森林资源、涵养水源、固碳增汇等^[2]。作为重要的林业碳汇, 其在

缓解全球气候变化方面也已经引起广泛的关注。李永夫等^[3]研究表明, 较高施肥量显著增加毛竹林土壤水溶性碳含量; 叶耿平等^[4]研究发现, 毛竹林土壤平均呼吸速率显著高于阔叶林; 徐秋芳和姜培坤^[5]研究发现, 毛竹林土壤易氧化有机碳显著高于阔叶林、马尾松林、杉木林。然而, 也有大量研究表明, 天然林改造成毛竹林后生物多样性下降, 植被群落结构会发生明显的变化^[6]; 长期种

* 国家自然科学基金项目 (41671252、41271274) 和浙江农林大学农林碳汇与生态环境修复研究中心预研基金项目 (2013CB03) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 41671252, 41271274) and the Foundation of Research Center for Agriculture and Forestry Carbon Sequestration and Environmental Remediation of Zhejiang A&F University (No. 2013CB03)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: qinhua@zafu.edu.cn

作者简介: 牛利敏 (1991—), 女, 内蒙古清水河人, 硕士研究生, 主要从事土壤微生物生态研究。E-mail: niulm1991@163.com

收稿日期: 2016-11-11; 收到修改稿日期: 2017-01-02; 优先数字出版日期 (www.cnki.net): 2017-01-06

植导致毛竹林生产力逐渐下降、养分衰退、土壤微生物群落结构发生改变等^[7]，从而影响毛竹林的生态经济效益及可持续发展。

丛枝菌根 (Arbuscular mycorrhizae, AM) 真菌广泛分布于陆地生态系统, 能侵染超过80%的陆生植物根系, 与植物形成互惠共生体。AM真菌从植物获取碳水化合物 (可利用高达5%~20%的光合作用产物), 作为回报, 其帮助植物吸收矿质养分和水分^[8]。同时, AM真菌还通过促进地上植物净初级生产力、促进土壤团聚体形成、调节土壤呼吸、影响有机质降解以及AM真菌本身生物量累积等途径直接或间接影响土壤碳固存^[9-11]。因此, AM真菌在林业生态系统中具有重要的碳汇功能。大量研究表明, AM真菌群落结构及生物量受植被群落、地理因素、人为干扰等诸多因素影响, 同时具有时间和空间的异质性^[12]。因此, 地上植被群落的演替以及经营方式等均会对土壤AM真菌群落结构造成潜在的影响, 从而影响其碳汇功能。

目前, 关于毛竹林替代天然林以及长期种植毛竹对土壤AM真菌群落结构演变趋势及其主要影响因素还少有相关研究。阐明毛竹林替代天然林以及长期种植毛竹对土壤AM真菌群落的影响机理对于评估毛竹林生态风险、保护生态系统稳定、提升竹林碳汇功能具有重要意义, 也可为合理经营毛竹林提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于浙江省湖州市安吉县 (30°52'~30°23' N, 119°53'~119°14' E), 该地属于北亚热带季风气候, 年均气温15℃, 年均降水量1485 mm。当地主要林分为马尾松林和毛竹林, 均生长于低山丘陵地貌, 土壤母质为粉砂和细砂混合岩。试验选择的毛竹林均是由毛竹入侵马尾松林后, 对马尾松进行皆伐演变而来, 且均实施粗放经营。毛竹林和马尾松林土壤类型和母质一致, 坡度、坡向以及海拔等地形条件基本相同, 但是马尾松皆伐时间不同, 代表不同的毛竹林种植年限。对马尾松林及不同种植年限毛竹林植被群落进行调查, 马尾松林盖度为50%左右, 乔木层主要有马尾松 (*Pinus massoniana*)、杉木 (*Cunninghamia lanceolata*)、木荷 (*Schima spuerba*)、青冈

(*Cyclobalanopsis glauca*)、油茶 (*Camellia oleifera*)、枫香 (*Liquidambar formosana*)、紫楠 (*Phoebe sheareri*)、豹皮樟 (*Litsea coreana*)、短柄枹 (*Quercus glandulifera*)、棕榈 (*Trachycarpus fortunei*) 等10种, 灌木层主要有南天竹 (*Nandina domestica*)、檫木 (*Loropetalum chinensis*)、紫金牛 (*Ardisia japonica*)、苦槠 (*Castanopsis sclerophylla*)、紫藤 (*Wisteria sinensis*)、六角莲 (*Dysosma pleiantha*)、马银花 (*Rhododendron ovatum*)、微毛柃 (*Eurya hebeclados*)、菝葜 (*Smilax china*)、山鸡椒 (*Litsea cubeba*)、连蕊茶 (*Camellia cuspidata*)、映山红 (*Rhododendron pulchrum*) 等12种, 草本层主要有狗脊蕨 (*Woodwardia japonica*)、兔儿伞 (*Syneilesis aconitifolia*)、麦冬 (*Ophiopogon japonicus*)、玉竹 (*Polygonatum odoratum*)、印度黄芩 (*Scutellaria indica*) 等5种。粗放经营毛竹林盖度为90%左右, 下层木非常稀疏。依不同种植年限, 毛竹林林下植被群落具有差异, 粗放经营5 a和9 a的毛竹林比较类似, 乔木层主要有毛竹和油茶2种, 灌木层主要有南天竹、檫木、山鸡椒、紫藤等4种, 草本层主要有狗脊蕨、兔儿伞、小花鸢尾 (*Iris speculatrix*)、紫花堇菜 (*Viola grypoceras*) 等4种。长期粗放经营毛竹林 (15 a和18 a) 植物群落较为类似, 乔木层主要为毛竹, 灌木层主要有山莓 (*Rubus corchorifolius*)、山鸡椒和连蕊茶等3种, 草本层主要有狗脊蕨、兔儿伞、络石 (*Trachelospermum jasminoides*)、白花败酱 (*Patrinia villosa*)、宝铎草 (*Disporum sessile*) 等5种。毛竹林在实施粗放经营过程中基本保留林下灌木和杂草, 每2年砍伐一次, 不进行钩梢、施肥、垦覆等人为培育措施干扰。

1.2 试验方法

于2013年10月对当地毛竹林开展调研, 根据农户调查结果, 选取种植年限为5 a、9 a、15 a和18 a (营林年份分别为2008、2004、1998、1995年) 的毛竹林, 同时选择毛竹林附近立地条件相近的马尾松林 (Masson pine, MP) 作为对照, 共计5个林地。在每个林地选取10 m×10 m标准样地3个, 共计15个标准样地。每个标准样地按一定距离设置5个采样点, 去除表层落叶及大的石块等杂物后采集0~20 cm土壤样品, 将5份土壤样品充分

混合成为一个样品,置于冰盒带回实验室,土壤样品混匀后过2 mm筛,一部分新鲜土样立即用于土壤总DNA和球囊霉素相关土壤蛋白(Glomalin-related soil protein, GRSP;以下简称球囊霉素)提取以及磷脂脂肪酸(Phospholipid fatty acids, PLFA)分析,一部分土样风干后用于土壤理化性质分析;同时每个标准样地随机采集1个原状土样,样品盒带回实验室,用于团聚体分离。

1.3 球囊霉素相关土壤蛋白含量测定

依据不同的提取条件,将球囊霉素分为两类:易提取球囊霉素(Easily extractable glomalin-related soil protein, EE-GRSP)和总球囊霉素(Total glomalin-related soil protein, T-GRSP)。根据Wright和Upadhyaya^[13]描述的方法,称取相当于1 g干土的新鲜土样,易提取球囊霉素采用pH 7.0、20 mmol L⁻¹的柠檬酸钠浸提液在121 °C高压条件下浸提30 min,冷却后离心5 min(11 000 g),收集上清液;总球囊霉素采用pH 8.0、50 mmol L⁻¹柠檬酸钠浸提液在121 °C高压条件下浸提60 min,冷却后离心5 min(11 000 g),收集上清液,补充等体积的浸提液,连续浸提至上清液为淡黄色为止。采用考马斯亮蓝法测定提取液球囊霉素含量,计算其在土壤中的含量。

1.4 土壤AM真菌生物量测定

土壤AM真菌生物量采用磷脂脂肪酸方法测定。称取3.00 g冷冻干燥的土样,参照改进的Frostegård和Bååth^[14]的方法测定土壤磷脂脂肪酸含量。其中,在样品通过SPE柱分离过程中,同时收集中性脂(Neutral lipid, NLFA)和磷脂,分别甲基化后,采用安捷伦6890N气相色谱对提取的中性脂和磷脂脂肪酸进行测定,MIDI Sherlocks微生物鉴定系统(MIDI Inc., Newark, DE)进行脂肪酸鉴定。根据Olsson等^[15]分类方法,16:1 ω 5脂肪酸为AM真菌特征脂肪酸,其中16:1 ω 5 PLFA主要代表菌丝生物量,16:1 ω 5 NLFA主要代表孢子、泡囊等繁殖体及储存器官生物量。

1.5 土壤团聚体分级

参照Six等^[16]的湿筛法进行团聚体分离。称取50 g风干土,在25 °C水中浸泡过夜,将土样依次通过2 mm、0.25 mm、0.053 mm筛,分别得到> 2 mm和2~0.25 mm水稳性大团聚体、0.25~0.053 mm水稳性微团聚体、<0.053 mm粉—黏团聚体。各粒级团聚体于60 °C烘干,称重。

1.6 土壤AM真菌群落结构分析

采用PowerSoil[®]DNA Isolation Kit试剂盒提取土壤总DNA。采用带条形码(barcode)的AMV4.5NF和AMDGR引物对扩增AM真菌18S rDNA^[17]。PCR产物经纯化、定量后,对不同样品进行DNA等量取样后,采用TruSeqTMDNA Sample Prep LT Kit和MiSeq Reagent Kit制备Illumina测序文库,采用Illumina Miseq平台进行双末端250 bp测序。PCR及Illumina Miseq测序均在中国科学院南京土壤研究所完成。

采用Quantitative Insights Into Microbial Ecology(QIIME)1.9.0-dev(<http://www.qiime.org>)分析序列^[18]。首先对序列进行质控(质控分>25且长度)200 bp),然后根据条形码将序列分配到各土壤样品。对序列进行降噪后,将所有序列以97%相似度为标准划分操作分类单元(Operational taxonomic unit, OTU),选择每个OTU中丰度最高的序列作为该OTU的代表序列。OTU比对采用Silva 109数据库(<http://www.arb-silva.de/download/archive/qiime/>)。测序共获得AM真菌序列28 373条,各样地AM真菌测序深度处于1 185~3 891条序列之间,因此以1 100条AM真菌序列为标准进行10次重复取平均,用于群落结构分析。

1.7 数据处理

采用SPSS 18.0统计软件进行数据处理,Duncan单因素方差分析比较各处理之间的差异显著性($p < 0.05$)。利用Pearson相关系数分析土壤理化性质与土壤球囊霉素及AM真菌生物量之间的相关关系。采用R语言Vegan包对不同处理土壤AM真菌群落进行非度量多维尺度转换排序(Non-metric multidimensional scaling, NMDS)分析,并通过相似性检验(Analysis of similarities, ANOSIM)测试不同群落之间的差异显著性($p < 0.05$),同时采用enfit参数筛选对AM真菌群落结构演变贡献显著的土壤因子。

2 结 果

2.1 不同种植年限毛竹林土壤理化性质差异

与天然马尾松林相比,毛竹林种植初期土壤pH出现逐渐升高的趋势,随着种植年限的增加土壤pH先上升后下降,9 a毛竹林土壤pH显著高于其

他年限和马尾松林 ($p < 0.05$)，18 a毛竹林土壤 pH与天然马尾松林没有显著差异 (表1)。在毛竹种植初期，土壤有机质、有效磷以及速效钾含量均显著高于马尾松林 ($p < 0.05$)，然而随着种植年限的延长，这些养分含量均表现出下降的趋

势，其中18 a毛竹林土壤有机质含量显著低于天然马尾松林和5 a毛竹林 ($p < 0.05$)。毛竹林土壤碱解氮随着种植年限的延长而降低，且毛竹林种植18 a后土壤碱解氮含量显著低于天然马尾松林 ($p < 0.05$)。

表1 不同种植年限毛竹林土壤理化性质

Table 1 Physico-chemical properties of the soil under moso bamboo stands with different plantation age

处理 Treatment	pH (H ₂ O)	有机质 Organic matter (g kg ⁻¹)	碱解氮 Alkalytic N (mg kg ⁻¹)	有效磷 Available P (mg kg ⁻¹)	速效钾 Available K (mg kg ⁻¹)
MP	4.51 ± 0.05e	43.28 ± 2.18b	115.2 ± 21.9a	0.64 ± 0.15b	40.0 ± 7.2b
5 a	4.61 ± 0.08bc	57.84 ± 1.60a	102.2 ± 3.9ab	1.97 ± 0.41a	67.0 ± 8.2a
9 a	4.88 ± 0.15a	35.75 ± 1.25bc	93.1 ± 3.7ab	1.95 ± 0.43a	41.0 ± 5.0b
15 a	4.71 ± 0.12b	41.87 ± 2.13bc	93.9 ± 20.4ab	1.49 ± 0.85ab	45.7 ± 3.2b
18 a	4.63 ± 0.06bc	35.01 ± 4.22c	70.2 ± 5.1b	1.23 ± 0.25ab	44.7 ± 5.9b

注：MP，马尾松林；5 a、9 a、15 a、18 a分别表示毛竹种植年限为5年、9年、15年、18年。平均值 ± 标准差，n=3。同列字母不同表示差异达5%显著水平。下同Note: MP, Masson pine; 5 a, 9 a, 15 a and 18 a indicate moso bamboo stands with 5, 9, 15, 18 years of plantation age, respectively. Means ± Std, n=3. The different letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level. The same below

2.2 土壤球囊霉素含量及AM真菌生物量

与天然马尾松林相比，种植初期毛竹林土壤球囊霉素含量表现出增加趋势，其中5 a毛竹林土壤总球囊霉素含量显著高于天然马尾松林 ($p < 0.05$)。然而，长期种植毛竹林土壤球囊霉素含量呈现出逐渐降低的趋势，15 a和18 a毛竹林土壤易提取及总球囊霉素含量均显著低于5 a毛竹林 ($p < 0.05$)，但与天然马尾松林相比没有显著差

异 (表2)。以16:1 ω 5磷脂及中性脂表征土壤AM真菌生物量，结果表明马尾松林改造为毛竹林后，AM真菌生物量均表现出下降的趋势，毛竹林长期种植后逐渐趋于稳定 (表2)。15 a和18 a毛竹林土壤AM真菌菌丝生物量 (16:1 ω 5 PLFA) 及孢子生物量 (16:1 ω 5 NLFA) 均显著低于天然马尾松林和种植初期 (5 a) 毛竹林 ($p < 0.05$)。

土壤理化性质与土壤球囊霉素含量及AM真

表2 不同种植年限毛竹林土壤球囊霉素含量及AM真菌生物量

Table 2 GRSP content and soil AM fungi biomass in the soil under moso bamboo stands with different plantation age

处理 Treatment	球囊霉素GRSP		16:1 ω 5	
	易提取球囊霉素 EE-GRSP (g kg ⁻¹)	总提取球囊霉素 T-GRSP (g kg ⁻¹)	磷脂脂肪酸 PLFA (nmol g ⁻¹)	中性脂脂肪酸 NLFA (nmol g ⁻¹)
	MP	2.02 ± 0.36ab	9.48 ± 0.88b	2.20 ± 0.40a
5 a	2.32 ± 0.02a	11.40 ± 0.24a	1.52 ± 0.35b	1.32 ± 0.38a
9 a	1.69 ± 0.43b	10.21 ± 0.79ab	1.20 ± 0.12bc	1.02 ± 0.29ab
15 a	1.66 ± 0.31b	9.64 ± 1.07b	0.98 ± 0.06c	0.81 ± 0.05b
18 a	1.54 ± 0.12b	9.10 ± 0.33b	0.91 ± 0.10c	0.78 ± 0.09b

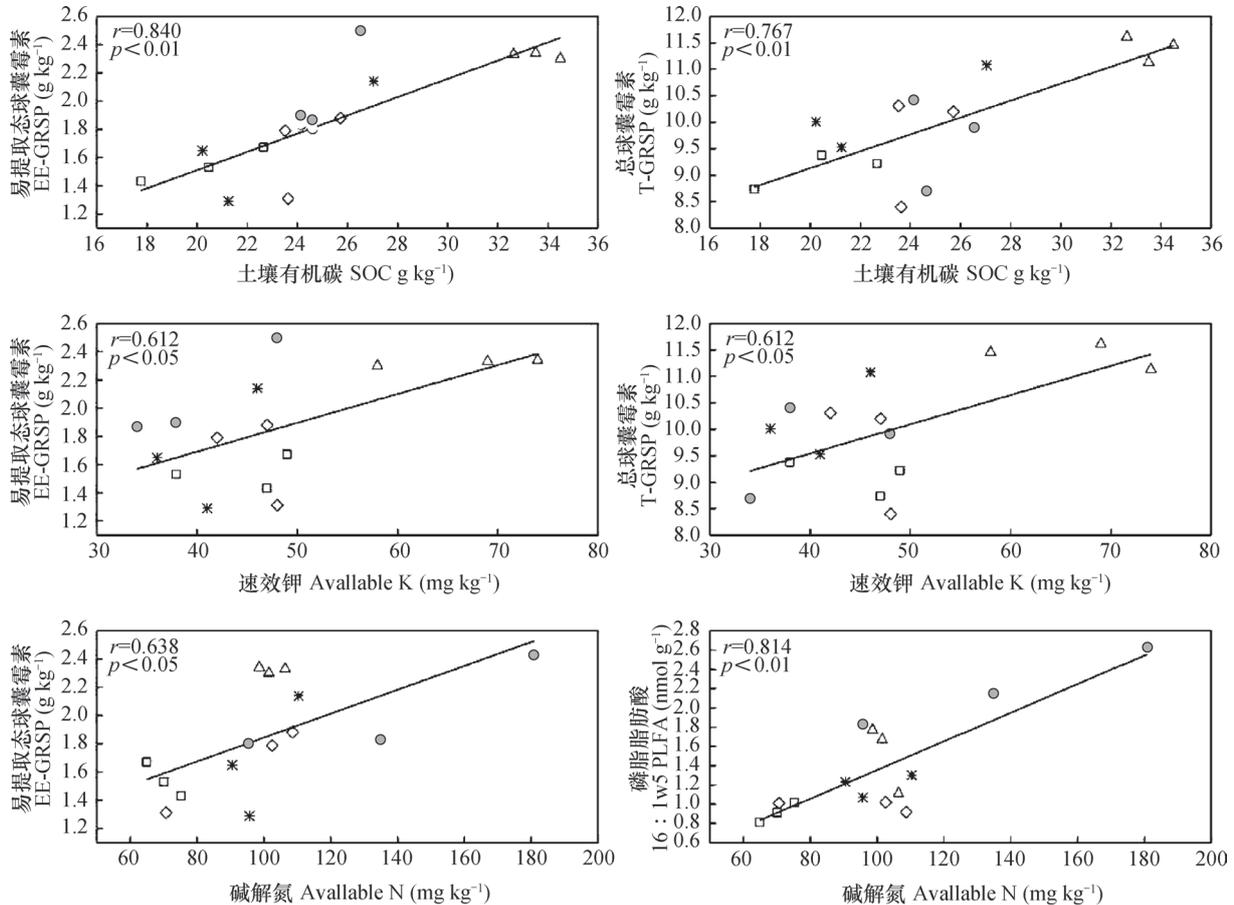


图1 土壤养分与球囊霉素及AM真菌生物量相关分析

Fig. 1 Relationships of soil nutrients with GRSP content and AM fungal biomass

菌生物量的Pearson相关分析结果见图1。结果表明，土壤易提取球囊霉素含量与土壤有机质 ($r=0.840$, $p < 0.01$, $n=15$) 呈极显著相关，与碱解氮 ($r=0.638$, $p < 0.05$, $n=15$) 和速效钾 ($r=0.612$, $p < 0.05$, $n=15$) 含量呈显著相关。土壤总球囊霉素含量与土壤有机质含量 ($r=0.767$, $p < 0.01$, $n=15$) 呈极显著相关，与速效钾含量 ($r=0.612$, $p < 0.05$, $n=15$) 呈显著相关。此外，土壤碱解氮含量与AM真菌菌丝生物量 (16 : 1 ω 5 PLFA) 呈极显著相关 ($r=0.814$, $p < 0.01$, $n=15$)。

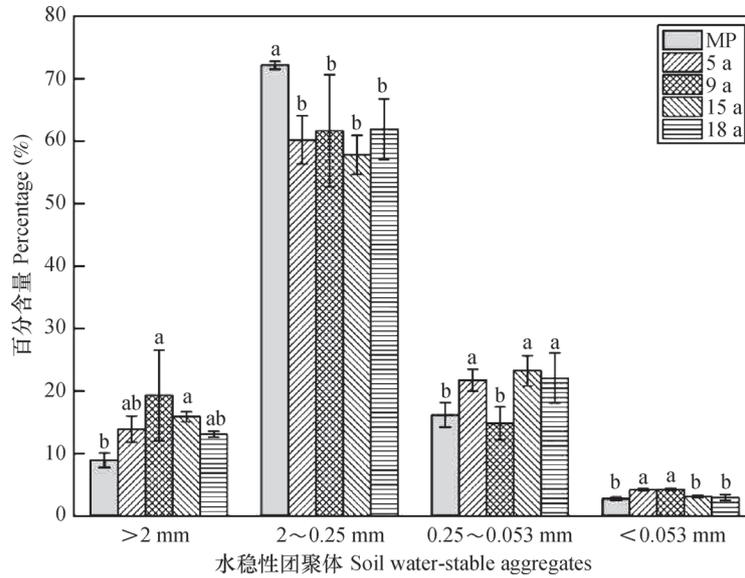
2.3 土壤水稳定性团聚体分布

长期种植毛竹影响了土壤水稳性团聚体分布 (图2)。总体而言，马尾松林及不同种植年限毛竹林土壤团聚体均以2 ~ 0.25 mm 粒级团聚体所占比重最大，约占57.79% ~ 72.40%；< 0.053 mm 粉-黏团聚体百分比最小，约占2.62% ~ 4.67%。与马尾松林相比，毛竹林2 ~ 0.25 mm 水稳性大团聚体

的百分含量显著降低 ($p < 0.05$)。相反，除9 a 毛竹林外，其他种植年限毛竹林土壤0.25 ~ 0.053 mm 水稳性微团聚体百分含量均显著高于对照马尾松林 ($p < 0.05$)。土壤 < 0.053 mm 粉-黏团聚体百分含量表现出先显著增加后显著降低的趋势 ($p < 0.05$)。Pearson 相关分析结果表明，土壤2 ~ 0.25 mm 水稳性大团聚体百分含量与AM真菌菌丝生物量 (16 : 1 ω 5 PLFA) 呈极显著正相关 ($r=0.644$, $p < 0.01$, $n=15$) (图3)。

2.4 土壤AM真菌群落分析

将所有OTU在属水平上进行分类，天然马尾松林及毛竹林土壤样品中共检测到12个属，其中绝大多数属于球囊霉属 (*Glomus*)，其丰度范围处于59.61% ~ 71.50%之间。其次为无梗囊霉属 (*Acaulospora*)，丰度范围在13.32% ~ 23.80%之间。比较各属AM真菌相对丰度，天然马尾松林改造为毛竹林以及毛竹林长期粗放经营后部分土壤AM真菌群落组成发生明显变化 (表3)。毛



注：图中误差线代表标准偏差。同一粒级团聚体中不同小写字母表示差异达5%显著水平 Note: The error bars represent standard deviation. The different letters at the same particle size level indicate significant difference at 5% level

图2 不同种植年限毛竹林土壤水稳性团聚体分布

Fig. 2 Distribution of soil water-stable aggregates in the soil under moso bamboo stands with different plantation age

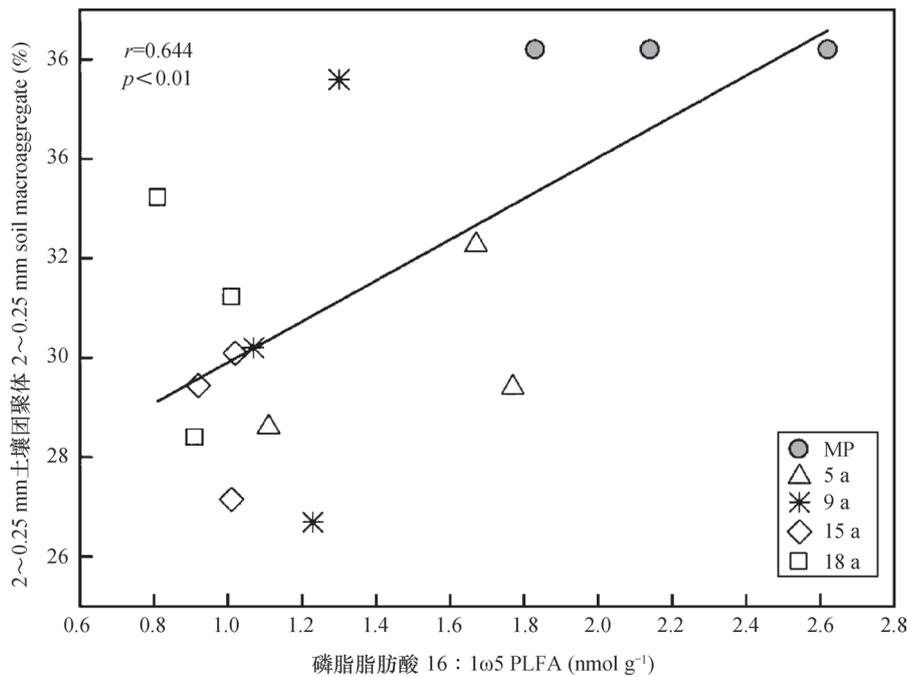


图3 土壤水稳性团聚体与16 : 1 ω 5 PLFA相关性

Fig. 3 Pearson correlation between soil water-stable aggregate and 16 : 1 ω 5 PLFA

竹林土壤球囊霉属相对丰度显著高于天然马尾松林 ($p < 0.05$)，长期种植毛竹林如15 a和18 a毛竹林球囊霉属相对丰度显著高于5 a和9 a毛竹林 ($p < 0.05$)。*Rhizophagus*属相对丰度与球囊霉属变化趋势一致。与*Rhizophagus*属和球囊霉属相

反，无梗囊霉属、类球囊霉属 (*Paraglomus*)、盾巨孢囊霉属 (*Scutellospora*) 以及*Sclerocystis*属相对丰度在毛竹长期种植过程中均显著降低 ($p < 0.05$)。但是，短期种植 (5 a、9 a) 毛竹林土壤无梗囊霉属相对丰度与天然马尾松林相比没有显

表3 土壤AM真菌属水平丰度变化

Table 3 Changes in relative abundance of soil AM fungi at genera level

属Genera	丰度 Abundance (%)				
	MP	5 a	9 a	15 a	18 a
<i>Acaulospora</i>	23.78 ± 2.17a	23.80 ± 2.30a	21.33 ± 4.28ab	17.31 ± 1.14bc	13.32 ± 3.70c
<i>Ambispora</i>	1.41 ± 0.25a	1.39 ± 0.35a	1.29 ± 0.28a	1.40 ± 0.58a	1.34 ± 0.45a
<i>Archaeospora</i>	0.43 ± 0.21a	0.30 ± 0.11a	0.45 ± 0.28a	0.22 ± 0.06a	0.21 ± 0.14a
<i>Diversispora</i>	4.69 ± 0.75a	4.27 ± 1.44ab	3.21 ± 0.65ab	2.47 ± 0.98b	4.13 ± 1.10ab
<i>Funneliformis</i>	0.33 ± 0.31a	0.32 ± 0.27a	0.24 ± 0.08a	0.14 ± 0.09a	0.18 ± 0.10a
<i>Gigaspora</i>	2.19 ± 1.2bc	0.70 ± 0.40d	1.19 ± 0.37cd	3.32 ± 0.30ab	3.58 ± 0.43a
<i>Glomus</i>	59.61 ± 2.33c	64.16 ± 2.46b	65.65 ± 2.76b	70.14 ± 1.58a	71.50 ± 2.72a
<i>Paraglomus</i>	0.58 ± 0.23a	0.29 ± 0.09b	0.55 ± 0.19a	0.12 ± 0.01b	0.19 ± 0.06b
<i>Redeckera</i>	0.50 ± 0.10a	0.38 ± 0.17a	0.41 ± 0.30a	0.30 ± 0.17a	0.14 ± 0.14a
<i>Rhizophagus</i>	0.36 ± 0.14d	1.61 ± 0.28c	2.31 ± 0.49bc	2.70 ± 0.69ab	3.13 ± 0.28a
<i>Sclerocystis</i>	0.54 ± 0.12a	0.16 ± 0.04b	0.21 ± 0.19b	0.18 ± 0.15b	0.25 ± 0.14b
<i>Scutellospora</i>	5.60 ± 0.34a	2.62 ± 0.18bc	3.17 ± 0.52b	1.70 ± 0.56d	2.02 ± 0.22cd

著差异。巨孢囊霉属 (*Gigaspora*) 和多孢囊霉属 (*Diversispora*) 均表现出先下降后逐渐升高的趋势, 其中马尾松林改造为毛竹后短期内巨孢囊霉属相对丰度显著降低 ($p < 0.05$), 但长期种植后 18 a 毛竹林土壤巨孢囊霉属相对丰度显著高于马尾松林和短期种植 (5 a、9 a) 毛竹林 ($p < 0.05$)。

对马尾松林以及不同种植年限毛竹林土壤 AM 真菌群落结构进行 NMDS 分析, 结果表明马尾松林 (MP) 与毛竹林土壤 AM 真菌群落结构存在明显差异 (图 4)。长期种植毛竹后, 土壤 AM 真菌群落结构也逐渐产生差异, 5 a、9 a 毛竹林聚在一起且与 15 a 和 18 a 毛竹林在 NMDS1 上有明显区分, 同时, 15 a 和 18 a 毛竹林在 NMDS1 上也有明显区分。ANOSIM 分析结果表明, 不同样地间土壤 AM 真菌群落存在显著差异 ($p = 0.001$)。将环境因子加载到 NMDS 排序图上, 以找出与 AM 真菌群落结构变异显著相关的土壤因子。结果表明, 土壤含水量 ($p = 0.005$)、碱解氮 ($p = 0.001$) 以及有效磷 ($p = 0.014$) 含量与土壤 AM 真菌群落变异显著相关, 而土壤 pH、有机质和速效钾含量与 AM 真菌群落变异没有显著相关关系 (表 4)。

3 讨论

3.1 AM 真菌群落演替的驱动机制

天然马尾松林演变为毛竹林后, 随着毛竹林种植年限的增加, 林下植被群落发生较大变化。马尾松林下具有十分丰富的灌木和草本层植被, 而毛竹林灌木十分稀疏, 物种丰富度降低, 但是草本层物种丰富度没有明显的差异。之前的研究结果也发现天然林演变为毛竹林后乔灌层的物种丰富度和多样性指数显著降低, 而草本层物种丰富度变化不一致^[19-20], 说明随着毛竹优势度的增加, 其他树种受到了较为明显的生态位的排挤。研究表明, AM 真菌与植物群落关系密切, AM 真菌可以改变植物多样性和生态功能, 反之植物群落结构的改变也会引起 AM 真菌群落的变化^[21]。关于 AM 真菌与植物群落的关系可以用被动/驱动理论 (Passenger/Driver hypothesis) 来解释^[21], 被动理论 (Passenger hypothesis) 认为 AM 真菌具有高度的宿主特异性, 特定的植物促进特定的 AM 真菌生长, 因此一旦植物群落发生改变, 共生的 AM 真菌群落也随之发生改变。驱动理论 (Driver hypothesis) 认为植物生

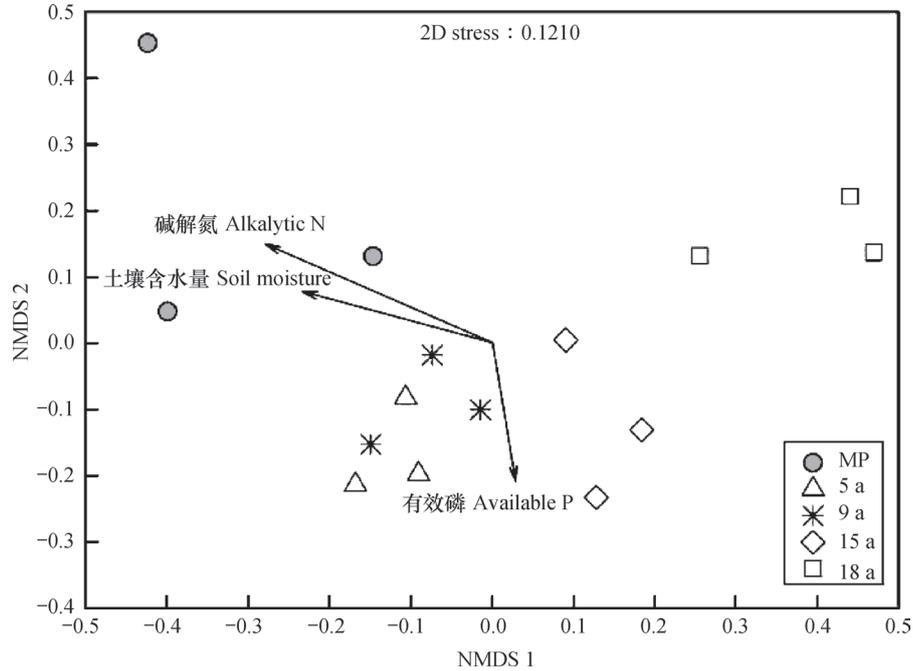


图4 AM真菌群落NMDS分析

Fig. 4 NMDS ordination plot of the AM fungal community

表4 土壤理化性质与AM真菌群落相关关系

Table 4 Relationships between soil chemical variables and AM fungal community

自变量 Independent variable	R ²	p-value
土壤含水量 Soil moisture	0.601 1	0.005**
pH	0.204 8	0.280
有机碳 Soil organic carbon	0.320 1	0.108
碱解氮 Alkalytic N	0.756 2	0.001***
有效磷 Available P	0.478 2	0.014*
速效钾 Available K	0.204 1	0.259

注：*，**，***分别表示在0.05，0.01和0.001水平上差异显著 Note: *，** and *** indicate significant p-values at 0.05, 0.01 and 0.001 levels respectively

长需要特定的共生AM真菌存在，AM真菌种群结构改变后，驱动植物群落随之发生改变。本研究发现在长期种植毛竹林过程中，被动理论可以很好地解释AM真菌群落结构及生物量的演变特征。在长期种植过程中，由于毛竹生长和更新速度快，从而导致其他植物多样性的逐渐丧失，因此只有能够与毛竹及林下少数植物种类形成菌根的AM真菌才能得以保存。

3.2 长期种植毛竹对土壤养分及AM真菌生物量的影响

长期种植毛竹后，土壤有机质和氮、磷、钾养分总体呈下降趋势，由于毛竹林属于近自然经营状态，没有任何人为养分输入，因此土壤养分含量减少可能与毛竹地上部分收获带走土壤养分有关。此外，由于毛竹林下植被减少，土壤养分随径流损失也是养分含量下降的一个可能原因。与土壤养分相似，无论是土壤球囊霉素含量还是AM真菌生物量均呈逐渐下降趋势（表2），且分别与土壤有机质、碱解氮和速效钾含量显著正相关（图1）。推测在毛竹林种植过程中，由于毛竹林植被向单一群落发展，导致AM真菌多样性及生物量均逐渐降低。此外，多个研究表明AM真菌生物量以及球囊霉素与土壤有机碳、氮含量具有正相关关系^[13, 22]。Li等^[10]发现土壤易提取态球囊霉素含量与土壤总碳和总氮含量显著正相关，说明土壤球囊霉素是重要的碳、氮贮存形式，且活性球囊霉素组分在毛竹生长过程中与土壤碳氮循环有非常紧密的联系。Wilson等^[11]发现，AM真菌根外菌丝长度与土壤有机碳、氮含量显著正相关，本研究也发现AM真菌PLFA生物量与土壤碱解氮含量显著正相关。AM真菌也可以通过根外菌丝网络链接以及球囊霉素黏

结这两条途径促进土壤团聚体形成从而提高土壤碳贮量^[23]。一般而言,土壤大团聚体比例总是随着土壤AM真菌菌丝长度的增加而增加的,AM真菌根外菌丝长度及相关球囊霉素对粒径大于0.25 mm土壤大团聚体比例的增加具有重要贡献^[11]。尽管本研究并未发现2~0.25 mm大团聚体比例与球囊霉素含量有显著差异,但是其与AM真菌菌丝生物量(16:1 ω 5 PLFA)呈显著正相关(图3)。在长期种植毛竹过程中,随着土壤AM真菌生物量降低,一方面导致土壤大团聚体占比逐渐下降,间接导致团聚体固定碳源的损失;另一方面也直接减少了植物通过菌丝输入土壤的那部分碳源,从而使毛竹林面临着碳贮量逐渐下降的生态风险。

3.3 AM真菌群落结构演变及其影响因素

目前,还很少见毛竹林土壤AM真菌群落结构的研究。本研究发现,毛竹林土壤球囊霉属(*Glomus*)和无梗囊霉属(*Acaulospora*)相对丰度较高,其中球囊霉属占比超过50%,这与之前的研究如长期施肥农田、内蒙古盐碱土以及青藏高原自然生态系统AM真菌群落结构类似^[10, 24-25],说明这两类AM真菌在很多生态环境中均占据重要地位。由于宿主范围广、适应性强,加之其可以通过菌丝或菌根片段侵染植物根系,球囊霉属是许多生态系统的优势种群^[26]。随着毛竹种植时间的延长,毛竹单优群落形成,球囊霉属占比逐渐增加而无梗囊霉属占比逐渐降低。Oehl等^[27]认为无梗囊霉属真菌适应酸性环境,但在长期毛竹林种植过程中,土壤pH并没有发生剧烈变化,而无梗囊霉属丰度却显著下降,我们认为其原因可能是毛竹根系并非无梗囊霉属AM真菌的理想宿主,无梗囊霉属真菌更多地与林下其他灌木及草本形成共生体,当林下灌木及草本数量急剧降低时,其丰度也随之降低。类似的原因也可以用来解释类球囊霉属(*Paraglomus*)、盾巨孢囊霉属(*Scutellospora*)以及*Sclerocystis*属相对丰度在毛竹长期种植过程中均显著降低。本研究发现马尾松林改造为毛竹后短期内巨孢囊霉属(*Gigaspora*)相对丰度显著降低($p < 0.05$),但长期种植后18 a毛竹林土壤巨孢囊霉属相对丰度显著高于马尾松林和短期种植(5 a、9 a)毛竹林($p < 0.05$)。其可能有两方面的原因:一是与球囊霉属的小孢子相比,巨孢囊霉属真菌产生非常巨大的孢子,其在土壤干扰后重新侵

染根系的速度相对较慢;二是与球囊霉属真菌具有发达的菌丝网并能通过菌丝片段侵染根系不同,巨孢囊霉属没有强大的菌丝网络,其主要依赖于孢子萌发侵染,这就需要较大的植物根系密度^[28]。巨孢囊霉属相对丰度的变化趋势也说明,其对土地利用干扰的敏感程度高于其他AM真菌,当土地利用方式变更后,其需要更长的时间来恢复^[29]。

除了地上植被外,土壤因子对AM真菌群落结构也有非常重要的影响。已有大量研究表明,土壤pH是AM真菌群落演变的主要影响因子^[25, 30],但由于在长期的毛竹种植过程中,土壤pH没有发生显著变化,因此在毛竹林土壤中pH并不是AM真菌群落变化的关键影响因子。与de Beenhouwer等^[25]结果类似,我们也发现土壤含水量、碱解氮及有效磷含量与AM真菌群落结构演变显著相关。Hazard等^[30]发现降雨量是AM真菌群落结构变异的重要驱动因子。之前的研究表明,土壤湿度对孢子群落结构有重要影响^[31]。由于不同AM真菌种类对磷素利用效率以及磷胁迫耐受性具有差异^[32],因此在土壤磷素变化过程中,AM真菌群落也随着毛竹对磷素的需求变化而产生相应变化。土壤AM真菌群落与速效氮具有显著相关性,同样说明不同AM真菌帮助毛竹吸收土壤速效氮的功能具有差异,长期的毛竹种植过程中,具有较强的吸收土壤氮素能力的AM真菌逐渐与毛竹形成重要的共生体。

4 结论

长期种植毛竹导致土壤养分整体呈下降趋势,土壤球囊霉素及AM真菌生物量均显著下降,其与土壤养分如有机质、碱解氮和速效钾呈显著正相关。与天然马尾松林相比,长期种植毛竹显著降低了土壤2~0.25 mm大团聚体百分含量,且大团聚体百分含量与AM真菌菌丝生物量呈显著正相关。土壤AM真菌以球囊霉属和无梗囊霉属为主要优势属,随着毛竹种植时间的延长,球囊霉属AM真菌相对丰度显著增加而无梗囊霉属显著降低。长期种植毛竹改变了土壤AM真菌群落结构,与天然马尾松林有明显区分,土壤含水量、碱解氮及有效磷是土壤AM真菌群落结构变异的主要影响因子。

参考文献

- [1] 漆良华, 刘广路, 范少辉, 等. 不同抚育措施对闽西毛竹林碳密度、碳贮量与碳格局的影响. 生态学杂志, 2009, 28 (8) : 1482—1488
 Qi L H, Liu G L, Fan S H, et al. Effects of different tending measures on carbon density, storage, and allocation pattern of *Phyllostachy edulis* forests in western Fujian Province (In Chinese). Chinese Journal of Ecology, 2009, 28 (8) : 1482—1488
- [2] 周国模, 姜培坤. 毛竹林的碳密度和碳贮量及其空间分布. 林业科学, 2004, 40 (6) : 2024
 Zhou G M, Jiang P K. Density, storage and spatial distribution of carbon in *Phyllostachy edulis* forest (In Chinese). Scientia Silvae Sinicae, 2004, 40 (6) : 2024
- [3] 李永夫, 姜培坤, 刘娟, 等. 施肥对毛竹林土壤水溶性有机碳氮与温室气体排放的影响. 林业科学, 2010, 46 (12) : 165170
 Li Y F, Jiang P K, Liu J, et al. Effect of fertilization on water-soluble organic C, N, and emission of greenhouse gases in the soil of *Phyllostachy edulis* stands (In Chinese). Scientia Silvae Sinicae, 2010, 46 (12) : 165—170
- [4] 叶耿平, 刘娟, 姜培坤, 等. 集约经营措施对毛竹林生长季土壤呼吸的影响. 浙江农林大学学报, 2011, 28 (1) : 1825
 Ye G P, Liu J, Jiang P K, et al. Soil respiration during the growing season with intensive management of *Phyllostachy pubescens* (In Chinese). Journal of Zhejiang A & F University, 2011, 28 (1) : 1825
- [5] 徐秋芳, 姜培坤. 不同森林植被下土壤水溶性有机碳研究. 水土保持学报, 2005, 18 (6) : 84—87
 Xu Q F, Jiang P K. Study on active organic carbon of soils under different types of vegetation (In Chinese). Journal of Soil and Water Conservation, 2005, 18 (6) : 84—87
- [6] 杨淑贞, 杜晴洲, 陈建新, 等. 天目山毛竹林蔓延对鸟类多样性的影响研究. 浙江林业科技, 2008, 28 (4) : 43—46
 Yang S Z, Du Q Z, Chen J X, et al. Effect of *Phyllostachys heterocycla* var. *pubescens* spreading on bird diversity (In Chinese). Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology, 2008, 28 (4) : 43—46
- [7] 何冬华, 沈秋兰, 徐秋芳, 等. 不同年限毛竹林土壤固氮菌群落结构和丰度的演变. 土壤学报, 2015, 52 (4) : 934—942
 He D H, Shen Q L, Xu Q F, et al. Environment of Structure and abundance of soil nitrogen-fixing bacterial community in *Phyllostachys edulis* plantations with age of time (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2015, 52 (4) : 934—942
- [8] Smith S E, Read D J. Mycorrhizal symbiosis. New York: Academic Press, 2008
- [9] 冯固, 张福锁, 李晓林, 等. 丛枝菌根真菌在农业生产中的作用与调控. 土壤学报, 2010, 47 (5) : 995—1004
 Feng G, Zhang F S, Li X L, et al. Functions of arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture and their manipulation (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2010, 47 (5) : 995—1004
- [10] Li X L, Zhang J L, Gai J P, et al. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi of sedges to soil aggregation along an altitudinal alpine grassland gradient on the Tibetan Plateau. Environmental Microbiology, 2015, 17 (8) : 2841—2857
- [11] Wilson G W T, Rice C W, Rillig M C, et al. Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: Results from long-term field experiments. Ecology Letters, 2009, 12 (5) : 452—461
- [12] Öpik M, Moora M, Liira J, et al. Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. Journal of Ecology, 2006, 94 (4) : 778—790
- [13] Wright S F, Upadhyaya A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Science, 1996, 161 (9) : 575—586
- [14] Frostegård Å, Bååth E. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. Biology and Fertility of Soils, 1996, 22 (1/2) : 59—65
- [15] Olsson P A, Bååth E, Jakobsen I, et al. The use of phospholipid and neutral lipid fatty acids to estimate biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in soil. Mycological Research, 1995, 99 (5) : 623—629
- [16] Six J, Elliott E T, Paustian K, et al. Aggregation and soil organic matter accumulation in cultivated and native grassland soils. Soil Science Society of America Journal, 1998, 62 (5) : 1367—1377
- [17] Sato K, Suyama Y, Saito M, et al. A new primer for discrimination of arbuscular mycorrhizal fungi with polymerase chain reaction-denature gradient gel electrophoresis. Grassland Science, 2005, 51 (2) : 179
- [18] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al.

- QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 2010, 7 (5) : 335—336
- [19] 张刚华, 萧江华, 聂洁珠, 等. 不同类型毛竹林植物物种多样性研究. *林业科学研究*, 2007, 20 (5) : 615621
Zhang G H, Xiao J H, Nie J Z, et al. Study on the species diversity at moso bamboo stands of different type (In Chinese). *Forest Research*, 2007, 20 (5) : 615—621
- [20] 白尚斌, 周国模, 王懿祥, 等. 天目山保护区森林群落植物多样性对毛竹入侵的响应及动态变化. *生物多样性*, 2013, 21 (3) : 288—295
Bai S B, Zhou G M, Wang Y X, et al. Plant species diversity and dynamics in forests invaded by moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) in Tianmu Mountain Nature Reserve (In Chinese). *Biodiversity Science*, 2013, 21 (3) : 288—295
- [21] Hart M M, Reader R J, Klironomos J N. Life-history strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to their successional dynamics. *Mycologia*, 2001, 93: 1186—1194
- [22] Rillig M C, Ramsey P W, Morris S, et al. Glomalin, an arbuscular mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant and Soil*, 2003, 253 (2) : 293—299
- [23] Rillig M C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science*, 2004, 84 (4) : 355—363
- [24] 唐明, 黄艳辉, 盛敏, 等. 内蒙古盐碱土中AM真菌的多样性与分布. *土壤学报*, 2007, 44 (6) : 1104—1110
Tang M, Huang Y H, Sheng M, et al. Diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in saline alkaline soil, Inner Mongolia (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 44 (6) : 1104—1110
- [25] de Beenhouwer M, van Geel M, Ceulemans T, et al. Changing soil characteristics alter the arbuscular mycorrhizal fungi communities of Arabica coffee (*Coffea arabica*) in Ethiopia across a management intensity gradient. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, 91: 133—139
- [26] Daniell T J, Husband R, Fitter A H, et al. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops. *FEMS Microbiology Ecology*, 2001, 36 (2/3) : 203—209
- [27] Oehl F, Sýkorová Z, Redecker D, et al. *Acaulospora alpina*, a new arbuscular mycorrhizal fungal species characteristic for high mountainous and alpine regions of the Swiss Alps. *Mycologia*, 2006, 98 (2) : 286—294
- [28] de la Providencia I E, de Souza F A, Fernández F, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi reveal distinct patterns of anastomosis formation and hyphal healing mechanisms between different phylogenetic groups. *New Phytologist*, 2005, 165 (1) : 261—271
- [29] Ji B, Gehring C A, Wilson G W T, et al. Patterns of diversity and adaptation in Glomeromycota from three prairie grasslands. *Molecular Ecology*, 2013, 22 (9) : 2573—2587
- [30] Hazard C, Gosling P, van der Gast C J, et al. The role of local environment and geographical distance in determining community composition of arbuscular mycorrhizal fungi at the landscape scale. *The ISME Journal*, 2013, 7 (3) : 498—508
- [31] Anderson R C, Liberta A E, Dickman L A. Interaction of vascular plants and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi across a soil moisture-nutrient gradient. *Oecologia*, 1984, 64 (1) : 111—117
- [32] Verbruggen E, van der Heijden M G A, Weedon J T, et al. Community assembly, species richness and nestedness of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils. *Molecular Ecology*, 2012, 21 (10) : 2341—2353

Effects of Long-term Plantation of *Phyllostachys edulis* on Evolution of Arbuscular Mycorrhizal Fungus Community in Soil

NIU Limin^{1, 2} QIN Hua^{1, 2†} XU Qiufang^{1, 2} WU Qifeng³ MIAO Jingjing^{1, 2} PENG Dingcong^{1, 2}

(1 School of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang A & F University, Lin'an, Zhejiang 311300, China)

(2 Zhejiang Provincial Key Laboratory of Carbon Cycling in Forest Ecosystems and Carbon Sequestration, Lin'an, Zhejiang 311300, China)

(3 Agricultural Technology Extension Centre, Lin'an, Zhejiang 311300, China)

Abstract 【Objective】 Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi are ubiquitous in the terrestrial ecosystem and capable of forming mutualistic relationships with most high plants, increase soil carbon sequestration via both direct and indirect pathways, and then play a key role in building up carbon storage in the forest ecosystem. However, little has been reported in the literature about variation of the AM fungus community in the soil under long-term plantation of moso bamboo (*Phyllostachys edulis*). Hence, the primary concern of this study is to explore variation of soil AM fungus in biomass and community structure, and its key affecting factors in the soil under long-term planted moso bamboo forest. 【Method】 As the moso bamboo forests in this area were mostly converted from masson pine forests one by one in the past years, plots of moso bamboo stands different in plantation age (i.e. 5 a, 9 a, 15 a and 18 a,) for comparison with the plots of natural masson pine forest. Each plot (10 × 10 m) had three replicates and all the plots were laid out at least 10 m apart. Five sampling points were set randomly in each plot, and samples of topsoil (0 ~ 20 cm) were collected from the five sampling sites in each plot and thoroughly mixed up to make a single composite sample for each plot. The soil samples were analyzed for biomass and community structure of AM fungi using the phospholipid fatty acid (PLFA) method and the high-throughput sequencing based on the Illumina Miseq platform method, respectively. Glomalin-related soil protein (GRSP) was extracted with citrate solution and measured by spectrophotometer using bovine serum albumin as standard. Soil water-stable aggregates were analyzed using the wet-sieving method. 【Result】 Results show that soil nutrients decreased in content with the moso bamboo plantation increasing in age. Moreover, the 18 year old plots were significantly lower than the 5 plots in both GRSP content and AM fungal biomass. Pearson correlation indicated that the content of easily extracted GRSP in the soil was positively related to organic C, available K, and available N ($p < 0.05$), and AM fungal hyphal biomass (16 : 1 ω 5 PLFA) positively and significantly to available N ($p < 0.01$). Fractionation of soil aggregates reveals that water-stable macroaggregates (2 ~ 0.25 mm in diameter) comprised the largest fraction of soil aggregates, varying in the range from 57.79% to 72.40% and long-term bamboo plantation reduced the fraction significantly. The percentage of macroaggregates was found positively and significantly related to the biomass of AM fungal hypha ($p < 0.01$). Results of high-throughput sequencing indicate that *Glomus* dominated in the AM fungal community, followed by *Acaulospora*. In soils under long-term moso bamboo plantation soil *Glomus* increased in relative abundance while *Acaulospora* decreased significantly ($p < 0.05$). Non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis demonstrates that the AM fungal communities in the soils under moso bamboo plantation varied sharply from those under masson pine plantation ($p=0.001$) and also significantly with age as was observed on the first axis of NMDS. When environmental variables were fitted onto NMDS ordination, AM fungal communities were found significantly

related to soil moisture ($p=0.005$) and available N ($p=0.001$), but marginally to available P ($p=0.014$).

【Conclusion】 Long-term plantation of moso bamboo decreases AM fungal biomass, alters AM fungal community structure significantly and exhausts soil nutrients steadily. The changes in soil moisture, available P and available N contribute significantly to the variation of soil AM fungal communities. Long-term plantation of moso bamboo also decreases the content of GRSP, and the proportion of soil water-stable macroaggregates (0.25 ~ 2 mm) significantly, which poses a negative impact on soil carbon sequestration and hence stability of the ecosystem.

Key words Arbuscular mycorrhizal fungi; *Phyllostachys edulis*; Community structure; Phospholipid fatty acids

(责任编辑: 卢 萍)