

DOI: 10.11829/j.issn.1001-0629.2020-0374

董万清, 闫智臣, 邓杰, 李应德, 丁婷婷, 段廷玉. 甘肃省兴隆山区域丛枝菌根真菌多样性初探. 草业科学, 2021, 38(3): 489-500.

DONG W Q, YAN Z C, DENG J, LI Y D, DING T T, DUAN T Y. A primary survey of the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi on Xinglong Mountain, Gansu Province. Pratacultural Science, 2021, 38(3): 489-500.

甘肃省兴隆山区域丛枝菌根真菌多样性初探

董万清, 闫智臣, 邓杰, 李应德, 丁婷婷, 段廷玉

(兰州大学草地农业生态系统国家重点实验室 / 兰州大学农业农村部草牧业创新重点实验室 /
兰州大学草地农业科技学院, 甘肃 兰州 730020)

摘要: 本研究采用 Illumina HiSeq 分子测序技术, 探究了兴隆山东山丛枝菌根 (Arbuscular mycorrhizal, AM) 真菌多样性及其在不同海拔高度的分布特征。结果表明: 1) 自兴隆山东山土壤分离获得 AM 真菌共 52 种, 隶属于 4 目 8 科 13 属, 其中球囊霉属 (*Glomus*) 和原囊霉属 (*Archaeospora*) 为主要物种, 分别为 20 种和 9 种, 共占总物种的 55.77%; 2) 各海拔梯度 AM 真菌种属分布结果表明, 优势属球囊霉属 (*Glomus*) 和类球囊霉属 (*Paraglomus*) 随海拔变化呈现规律性分布, 其余各属均匀分布于不同海拔梯度; 球状巨孢囊霉 (*Gigaspora margarita*)、蜜色无梗囊霉 (*Acaulospora mellea*)、白色球囊霉 (*Glomus albidum*)、球囊霉属的 *Glomus* sp. 1 和 *Glomus* sp. 4, 还有弯丝硬囊霉 (*Sclerocystis sinuosa*) 仅在部分海拔梯度出现, 为不同海拔特有种; 3) AM 真菌丰富度分析表明, 从低海拔到高海拔, ACE 和 Chao1 指数总体上表现出“单峰”变化曲线, 且部分海拔间差异性显著 ($P < 0.05$)。Spearman 相关性分析发现, 该地区 AM 真菌种属分布受海拔因子影响较小, 两者间不具有显著相关性。综上, 兴隆山东山 AM 真菌资源丰富, 物种繁多, 具有较大的应用潜力。

关键词: AMF; 高通量测序; 海拔; 种属分布; 资源调查; 球囊霉属

文献标志码: A **文章编号:** 1001-0629(2021)03-0489-12

A primary survey of the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi on Xinglong Mountain, Gansu Province

DONG Wanqing, YAN Zhichen, DENG Jie, LI Yingde, DING Tingting, DUAN Tingyu

(State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems / Key Laboratory of Grassland Livestock Industry Innovation,
Ministry of Agriculture and Rural Affairs / College of Pastoral Agriculture Science and
Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020, Gansu, China)

Abstract: In this study, Illumina HiSeq molecular sequencing technology was used to examine the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and their distribution characteristics at different altitudes in the Xinglong Mountain Nature Reserve (East Mountain), Gansu Province. A total of 52 species of arbuscular mycorrhizal fungi belonging to four orders, eight families, and 13 genera were obtained from soil samples. Among these, species of *Glomus* and *Archaeospora* were predominant, being represented by 20 and 9 species, respectively, and accounting for 55.77% of the total species. Results obtained for the distribution of arbuscular mycorrhizal fungi at different altitudes revealed that the dominant genera *Glomus* and *Paraglomus* were regularly distributed with changes in altitude, whereas the remaining genera were uniformly distributed at different altitudes. *Gigaspora margarita*, *Acaulospora mellea*, *Glomus albidum*, *Glomus* sp. 1, *Glomus* sp. 4, and *Sclerocystis sinuosa*

收稿日期: 2020-07-09 接受日期: 2020-08-25

基金项目: 国家重点研发计划 (2019YFC0507700); 国家绿肥产业技术体系 (CARS-22)

第一作者: 董万清 (1996-), 女, 甘肃永靖人, 在读硕士生, 主要从事丛枝菌根真菌相关研究。E-mail: dongwq19@lzu.edu.cn

通信作者: 段廷玉 (1976-), 男, 甘肃靖远人, 教授, 博士, 主要从事植物病理学研究。E-mail: duanty@lzu.edu.cn

appeared only at certain elevation levels, and are assumed to be restricted to different elevations. Analysis of arbuscular mycorrhizal fungal species richness indicated that from low altitude to high altitudes, the ACE and Chao1 indices generally had a “single peak” change curve, and showed significant differences at certain altitudes ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis indicated that the distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in this region is less affected by the altitude factor, and that there were no significant correlations between altitudes. In summary, arbuscular mycorrhizal fungi resources on the East Xinglong Mountain are rich and have considerable application potential.

Keywords: arbuscular mycorrhizal fungus; high-throughput sequencing; altitude; species distribution; resources survey; *Glomus*

Corresponding author: DUAN Tingyu E-mail: duanty@lzu.edu.cn

菌根是植物根系在漫长进化过程中与土壤真菌构建的互惠共生体,作为生态保护和农牧业发展的重要参与者,其在经济、社会和生态方面均发挥着不可替代的作用^[1]。菌根真菌作为菌根共生体的关键性要素,受到学者的广泛关注,尤其是丛枝菌根(arbuscular mycorrhizal, AM)真菌,可与 80% 的陆地植物构建共生关系^[2],且对生存环境要求较低,在森林、草原、沙漠、农田、河漫滩、盐碱地、工业污染区等各种环境条件下均能存活^[3-9],不仅能促进植物生长^[10-11]、优化根系养分吸收^[12-13]、改善土壤结构^[14]、增强植物抗逆性(抗病性、抗旱性、耐盐性、耐金属性等)^[15-18],还可参与调控所处生态系统的稳定性和生产力^[19-20],在生态系统中承担着极其重要的角色。因此,AM 真菌资源调查日益受到国际社会的重视^[21]。

我国是世界上物种多样性最高的国家之一,截止 2018 年,国内已发现 AM 真菌虚拟种 145 个,涵盖 8 科 12 属,约占全球已知 AM 真菌的 42%,这表明我国贮藏着丰富的 AM 真菌资源,具有巨大的开发潜力和应用价值^[22]。近年来,诸多学者在全国范围内展开 AM 真菌资源分布、物种多样性、群落特征、发生规律等相关调查研究^[6,9],以便全面了解和掌握各地区 AM 真菌资源现状。然而,我国国土面积辽阔,气候类型复杂,植被多样性高,极易受小气候影响而形成特殊生态系统,所以尚有诸多地区未进行 AM 真菌资源调查,且 AM 真菌多样性在不同气候、生境下的分布差异较大,因此,要全面掌握我国 AM 真菌多样性的整体情况,仍需要进行大量的调查研究^[22]。

甘肃省兴隆山国家级自然保护区地处东亚内陆,因其地理位置的独特性,被称为隔离的“林岛”^[23]。作为森林生态系统,保护区内植物资源丰富,现存高等植物 1 022 种,常形成乔灌木混合林带,被称为

甘肃境内植物资源“基因库”^[23]。而植物多样性往往与 AM 真菌多样性密切相关,两者间存在着积极的作用^[2,24]。因此,保护区内可能蕴藏着丰富的 AM 真菌资源,且其在维持和保护当地生态系统的稳定和发展方面可能发挥着重要作用,但目前尚缺乏该方面的基础资料,所以有必要开展相关 AM 真菌多样性调查工作。

基于此,本研究以兴隆山自然保护区为研究地,在不同海拔高度开展 AM 真菌资源分布及多样性调查工作,以期为兴隆山 AM 真菌资源应用提供数据资料,并丰富已知 AM 真菌种质资源库,为后续研究工作的开展奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样地概况

甘肃省兴隆山国家级自然保护区是兰州市榆中县(103°50′–104°10′ E, 35°38′–35°58′ N)重要的生态屏障,受地形和海拔的影响,保护区内气候差异较大,年平均气温 3~7℃,年均降水量为 340~520 mm^[25-26]。植被种类丰富,主要有青杆(*Picea wilsonii*)、小檗(*Berberis thunbergii*)、珍珠梅(*Sorbaria sorbifolia*)、白莲蒿(*Artemisia sacrorum*)等。兴隆山是保护区内三大山脉(兴隆山、马衔山和栖云山)之一,分为东、西两峰,海拔约 2 500 m。

1.2 样品采集

本研究以植被丰富的兴隆山东山(乔灌木混合林带)为研究样地,选取 2 000~2 600 m 海拔区域,于 2019 年 8 月按纵轴方向自下而上采集土壤样品共计 40 份。样地以海拔高度为基准,选取了 8 个海拔梯度,各海拔间间隔约 50 m,从低到高依次为 2 168、2 209、2 261、2 313、2 361、2 408、2 466 和

2 601 m。不同海拔梯度内设置 5 个样点, 各样点按等边三角形三点取样, 采集 0–10 cm 表层土壤, 过 2 mm 土壤筛后, 将 3 个分样品混合均匀, 取一定量土壤于 2 mm 离心管内, 准确编号后带回实验室, 置于–80 °C 冰箱保存, 后送至北京百迈客生物科技有限公司测序。

1.3 AM 真菌多样性测序

1.3.1 土壤 DNA 提取及 PCR 扩增

采用 MN NucleoSpin 96 Soi 试剂盒法提取土壤样品基因组 DNA, 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取效果, 并进行 PCR 扩增。第一次 PCR: 取适量 DNA 样品, 用无菌水稀释至 $1 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 以其为 DNA 模板, 根据选定的测序区域, 使用特异性引物 AMV4.5NF-AAGCTCGTAGTTGAATTTTCG、AMDGR-CCCAACTATCCCTATTAATCAT 进行扩增, 反应条件为 95 °C 预热 5 min; 25 个循环: 95 °C 变性 30 s, 50 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 40 s; 72 °C 延伸 10 min。

第二次 PCR: 对上述目标区域 PCR 纯化产物进行稀释, 并以其为模板进行 PCR, 98 °C 预热 30 s; 10 个循环: 98 °C 变性 10 s, 65 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s; 72 °C 延伸 5 min。扩增完成后, 对其产物进行 1.8% 琼脂糖凝胶电泳检测。根据 PCR 产物浓度进行 1:1 等量混样, 并利用 OMEGA DNA 纯化柱纯化, 于 1.8% 琼脂糖凝胶电泳检测, 后进行切胶回收。

1.3.2 上机测序及数据处理

AM 真菌多样性检测选择 Illumina HiSeq 测序平台, 测序结束后选用 FLASH^[27](version 1.2.11) 和 Trimmomatic^[28](version 0.33) 软件对原始数据进行双端拼接及质量过滤, 获得高质量 Tags 序列, 之后通过 UCHIME^[29](version 8.1) 软件完成嵌合体清除过程, 获得有效数据。

1.3.3 物种注释和分类学分析

采用 Usearch 软件^[30]在 97% 的相似度水平下对优化序列进行聚类, 以测序所有序列数的 0.005% 为阈值过滤 OTU, 并结合 NCBI 和 MaarjAM 数据库信息, 对其代表序列进行物种注释, 以确定不同分类水平下(门 Phylum, 纲 Class, 目 Order, 科 Family, 属 Genus, 种 Species)各样品中 AM 真菌的群落构成及其系统发育关系。

1.4 统计分析

使用 R 3.6.1 软件^[31]计算样品物种水平 Alpha 多

样性指数; 利用 Excel^[32]柱状堆积图和饼状图分别表示 AM 真菌相对丰度和物种组成; 采用 SPSS 22.0^[33]单因素方差分析和多重比较的检验方法比较不同海拔间 AM 真菌多样性指数的差异, Spearman 相关性分析描述 AM 真菌多样性指数与海拔因子的相关性; 运用 MEGA 7^[31]绘制不同 AM 真菌系统进化树。

2 结果与分析

2.1 AM 真菌种属分类

在一定范围内, 随着测序条数的加大, 稀释曲线总体上趋于平缓(图 1), 说明本研究测序数据量足以反映当地土壤中 AM 真菌的基本情况, 可以进行后续数据分析。

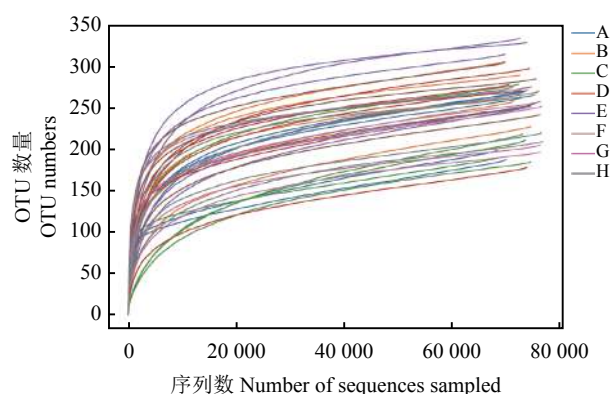


图 1 样品稀释曲线

Figure 1 Sample rarefaction curves

A、B、C、D、E、F、G、H 分别代表 8 个不同海拔高度, 依次为 2 168、2 209、2 261、2 313、2 361、2 408、2 466 和 2 601 m。

A, B, C, D, E, F, G, and H represent eight different altitudes, namely 2 168, 2 209, 2 261, 2 313, 2 361, 2 408, 2 466, and 2 601 m, respectively.

本研究分离获得 AM 真菌共 52 种, 隶属于 4 目 8 科 13 属(表 1), 具体为原囊霉目 (Archaeosporales) 2 科 2 属, 多样孢囊霉目 (Diversisporales) 3 科 4 属, 球囊霉目 (Glomerales) 2 科 6 属, 类球囊霉目 (Paraglomerales) 1 科 1 属。通过对测序 OTU 代表序列进行数据库比对, 采用邻接法 (Neighbor-joining) 进行系统进化分析(图 2、图 3), 鉴定为球囊霉属 (*Glomus*) 20 种, 原囊霉属 (*Archaeospora*) 9 种, 类球囊霉属 (*Paraglomus*) 6 种, 近明球囊霉属 (*Claroideoglomus*) 5 种, 多样孢囊霉属 (*Diversispora*) 3 种, 硬囊霉属 (*Sclerocystis*) 2 种, 双型囊霉属 (*Ambispora*)、无梗囊霉属 (*Acaulospora*)、盾巨孢囊霉属 (*Scutellospora*)、巨孢囊霉属 (*Gigaspora*)、多氏囊

表 1 Arbuscular mycorrhizal (AM) 真菌种属分类
Table 1 Classification of arbuscular mycorrhizal fungal species

目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	基原异名/同种异名(年份) Basionyms, synonyms & additional comments (Year)
原囊霉目 Archaeosporales	原囊霉科 Archaeosporaceae	原囊霉属 <i>Archaeospora</i>	<i>Archaeospora</i> sp. Mueller15	
			<i>Archaeospora</i> sp. LH-Ar02	
			<i>Archaeospora</i> sp. LH-Ar03	
			<i>Archaeospora</i> sp.1	
			<i>Archaeospora</i> sp.2	
			<i>Archaeospora</i> sp.3	
			<i>Archaeospora</i> sp.4	
			<i>Archaeospora</i> sp.5	
			<i>Archaeospora</i> sp.6	
多样孢囊霉目 Diversisporales	双型囊霉科 Ambisporaceae	双型囊霉属 <i>Ambispora</i>	<i>Ambispora</i> sp.	
			三壁多样孢囊霉 <i>D. trimurales</i>	<i>Glomus trimurales</i> Koske & Halvorson (1989)
			橙黄多样孢囊霉 <i>D. aurantia</i>	<i>Glomus aurantium</i> Błaszk, Blanke, Renker & Buscot (2004)
			<i>D. aurantia</i> Clade-2	
			球状巨孢囊霉 <i>G. margarita</i>	
			双紫盾巨孢囊霉 <i>S. dipurpurescens</i>	
球囊霉目 Glomerales	球囊霉科 Glomeraceae	斗管囊霉属 <i>Funneliformis</i>	苏格兰斗管囊霉 <i>F. caledonium</i>	<i>Endogone macrocarpa</i> var. <i>Caledonia</i> Nicolson & Gerd (1968) = <i>Glomus</i> <i>caledonium</i> Trappe & Gerd (1974)
			根孢囊霉属 <i>Rhizophagus</i>	<i>Endogone vesiculifera</i> Thaxt (1922) = <i>Glomus vesiculiferum</i> Gerd & Trappe (1974)
			多氏囊霉属 <i>Dominikia</i>	<i>Glomus indicum</i> Błaszk, Wubet, Harikumar (2010)
			硬囊霉属 <i>Sclerocystis</i>	<i>Glomus sinuosum</i> Almeida & Schenck (1990) = <i>Sclerocystis pakistanica</i> Iqbal & Perveen, Trans (1980)
			帚状硬囊霉 <i>S. coremioides</i>	<i>Glomus coremioides</i> Redecker & Morton (2000)
			球囊霉属 <i>Glomus</i>	<i>Endogone microcarpus</i> Tul & Tul (1851)
			小果球囊霉 <i>G. microcarpum</i>	
			多梗球囊霉 <i>G. multicaule</i>	
			白色球囊霉 <i>G. albidum</i>	
			双型球囊霉 <i>G. ambisporum</i>	
			大果球囊霉 <i>G. macrocarpum</i>	<i>Endogone macrocarpa</i> Tul & Tul (1851)
			黄孢球囊霉 <i>G. flavisporum</i>	<i>Endogone flavispora</i> Lange & Lund (1955)
			<i>Glomus</i> sp. Yoshimura 13a	
			<i>Glomus</i> sp. SG07	

续表 1
Table 1 (Continued)

目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	基原异名/同种异名(年份) Basionyms, synonyms & additional comments (Year)
			<i>Glomus</i> sp.1 <i>Glomus</i> sp.2 <i>Glomus</i> sp.3 <i>Glomus</i> sp.4 <i>Glomus</i> sp.5 <i>Glomus</i> sp.6 <i>Glomus</i> sp.7 <i>Glomus</i> sp.8 <i>Glomus</i> sp.9 <i>Glomus</i> sp.10 <i>Glomus</i> sp.11 <i>Glomus</i> sp.12	
	近明球囊霉科 Claroideoglomeraceae	近明球囊霉属 Claroideoglomus	近明球囊霉 <i>C. claroideum</i> <i>Claroideoglomus</i> sp. GLBa1.1 <i>Claroideoglomus</i> sp.1 <i>Claroideoglomus</i> sp.2 <i>Claroideoglomus</i> sp.3	<i>Glomus claroideum</i> Schenck & Sm. (1982) (emendation by Walker & Vestberg 1998) = <i>Glomus maculosum</i> Mill & Walker (1986), <i>G. fistulosum</i> Skou & Jakobsen (1989)
类球囊霉目 Paraglomerales	类球囊霉科 Paraglomeraceae	类球囊霉属 Paraglomus	漆亮类球囊霉 <i>P. laccatum</i> <i>Paraglomus</i> sp. Para2 <i>Paraglomus</i> sp.1 <i>Paraglomus</i> sp.2 <i>Paraglomus</i> sp.3 <i>Paraglomus</i> sp.4	<i>Glomus laccatum</i> Błaszk (1988)

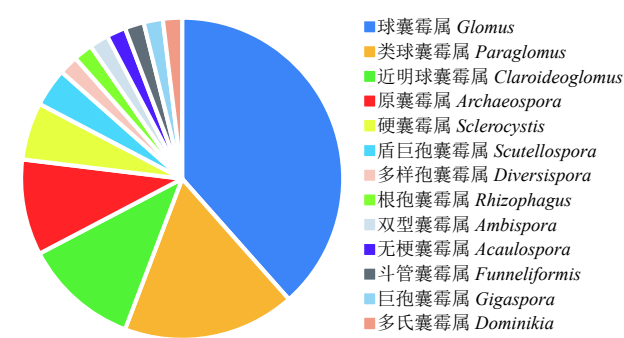


图 2 属水平上 arbuscular mycorrhizal 真菌的物种数目
Figure 2 The number of arbuscular mycorrhizal fungal species at the genus level

霉属 (*Dominikia*)、根孢囊霉属 (*Rhizophagus*) 和斗管囊霉属 (*Funneliformis*) 各 1 种。但部分菌种系统进化发育并不完全符合规律, 如球囊霉属的 *Glomus* sp.2、*Glomus* sp.6、*Glomus* sp.8、*Glomus* sp.10、*Glomus*

sp.11 和 *Glomus* sp.12, 其在进化树中与其他同属菌种并未聚在同一分支 (图 3)。

2.2 AM 真菌丰度及海拔分布特征

2.2.1 不同海拔梯度 AM 真菌资源分布

兴隆山东山地区 AM 真菌资源分布总体上表现为: 优势种属和特有种属随海拔变化呈现规律性分布, 其余各属种则均匀分布于不同海拔梯度。属水平上, 从低海拔到高海拔, AM 真菌优势属由球囊霉属逐渐转变为类球囊霉属 (除 2 168 m 海拔梯度), 其中球囊霉属在 2 209~2 313 m 海拔范围内为优势属, 分别占各海拔的 73.87%、81.23%和 47.10%, 类球囊霉属为 2 361~2 601 m 海拔优势属, 占各海拔的 72.50%~89.41%; 无梗囊霉属和巨孢囊霉属为部分海拔特有属 (图 4)。

不同海拔梯度 AM 真菌种水平上组成存在差异(表 2)。类球囊霉属 sp.2、球囊霉属 sp.8 和近明球囊霉属 sp.1 为该地区不同海拔优势种,其类球囊霉属 sp.2 为各海拔共有优势种(除 2 261 m 海拔外),球囊霉属 sp.8 在 2 209~2 313 m 和 2 466 m 海拔内为优势种,近明球囊霉属 sp.1 为 2 313 m 海拔优势种。蜜色无梗囊霉、球状巨孢囊霉、白色球囊霉、球囊霉属 sp.1、球囊霉属 sp.4 和弯丝硬囊霉仅在部分海拔梯度出现,分别为不同海拔特有种。

2.2.2 不同海拔 AM 真菌多样性

不同海拔 AM 真菌多样性指数(表 3)显示,测序文库覆盖度均在 0.9999 以上,测序结果准确可

靠。在 97% 相似性水平下,沿低海拔至高海拔梯度,Chao1 和 ACE 指数总体上呈现出先增后减的变化趋势(除 2 168 m 海拔外),且在 2 361 m 海拔梯度达到峰值。其中,在 2 361 m 时,Chao1 指数极显著高于 2 209、2 408 和 2 466 m ($P < 0.01$),ACE 指数显著高于 2 408 m ($P < 0.05$)。Simpson 指数和 Shannon 指数在不同海拔间差异均不显著,表明各海拔梯度物种多样性组成相似。

2.3 AM 真菌分布与海拔高度相关性

利用 AM 真菌丰富度和多样性指数(Chao1、ACE、Shannon 和 Simpson 指数)与海拔高度进行 Spearman

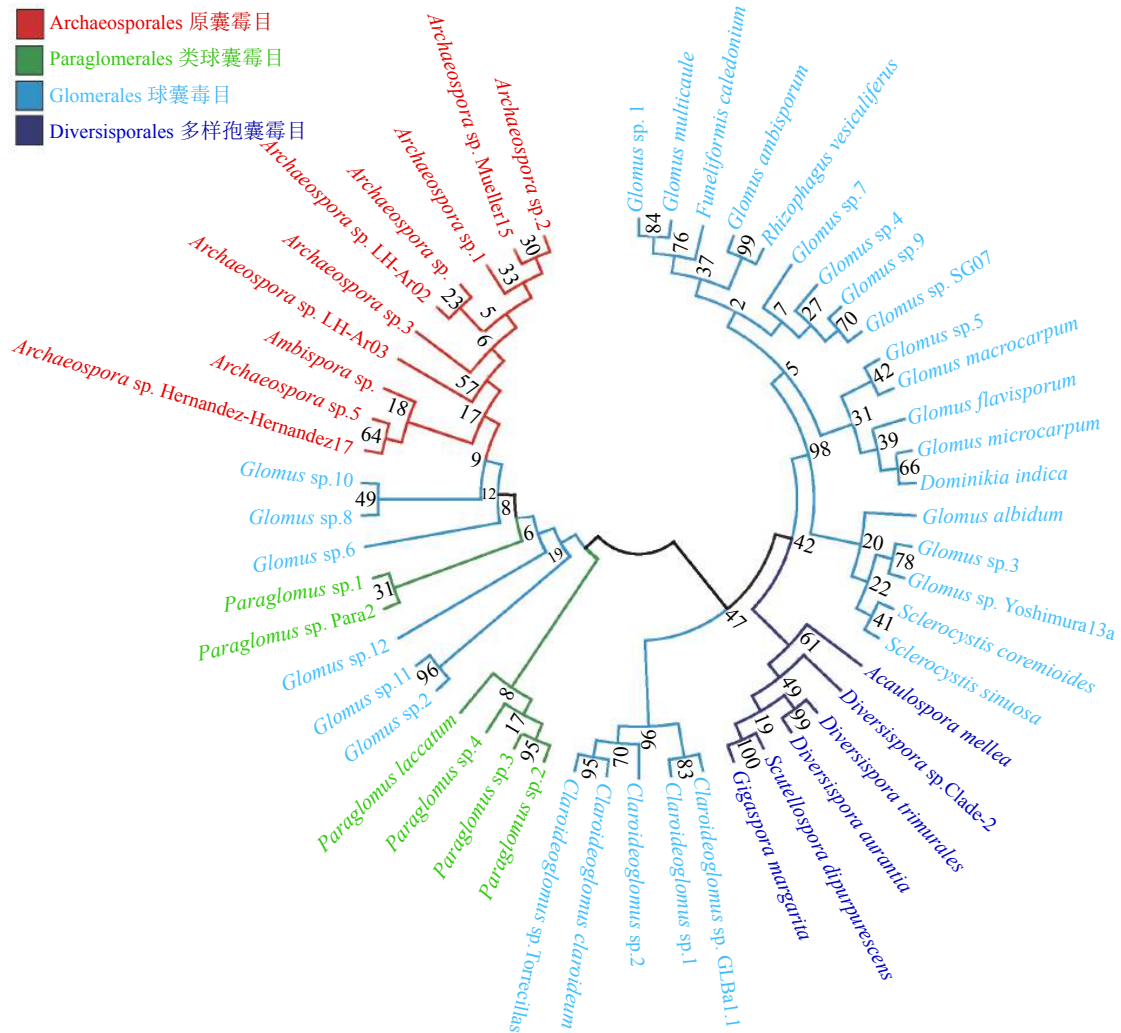


图 3 Arbuscular mycorrhizal 真菌系统进化树

Figure 3 A phylogenetic tree of arbuscular mycorrhizal fungi

不同的颜色代表不同“目”AM 真菌;分支代表不同菌种在进化上的亲缘关系,距离越近,其亲缘关系越近;分支上的数字称为“自展值”,用来检验进化树分支的可信度。

Different colors represent the different orders of AM fungi, and branches represent the evolutionary kinship of different strains. The shorter the distance of the branch, the closer is the kinship. The numbers on branches are “self-expanding values”, which indicate the reliability of the evolutionary tree branches.

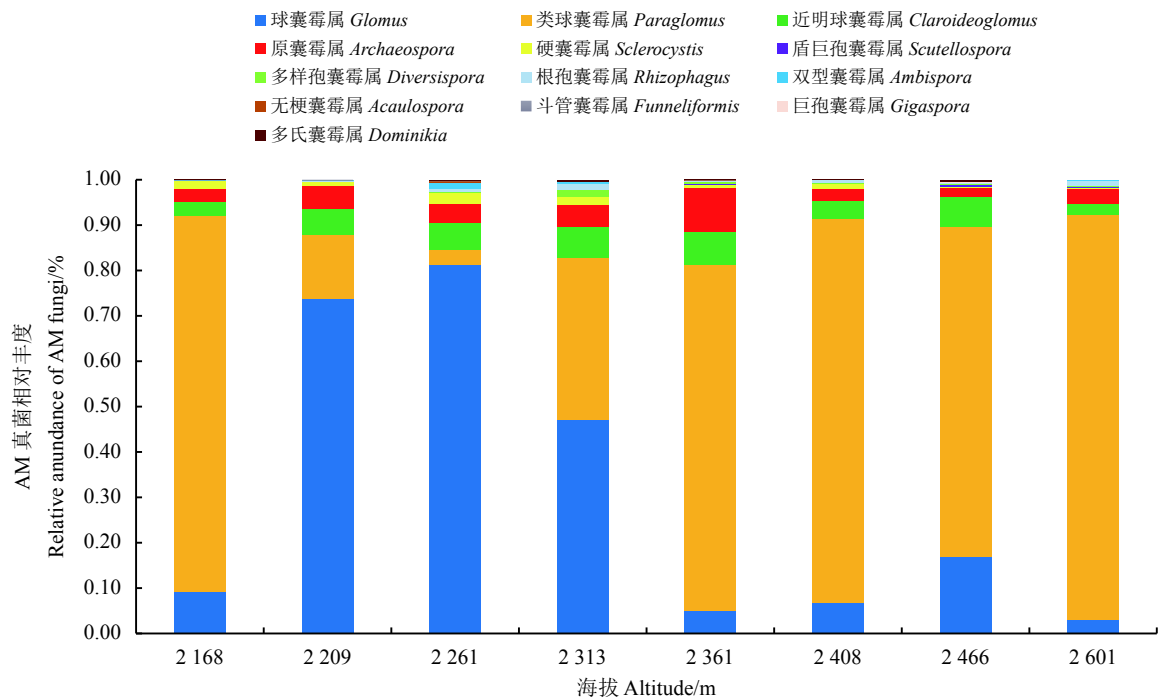


图 4 Arbuscular mycorrhizal 真菌属水平相对丰度
Figure 4 The relative abundance of arbuscular mycorrhizal fungi at the genus level

相关性分析, 结果表明各指数与海拔间相关系数依次为 -0.291 , -0.277 , 0.026 和 -0.041 , 均未达到显著水平 ($P > 0.05$), 说明该地区 AM 真菌资源分布受海拔因子的影响较小, 两者间不具有直接的相关性。

3 讨论

兴隆山自然保护区作为甘肃兰州榆中县的“绿色岩岛”, 因其独特的地理位置, 对当地生态稳定、物质循环、能量流动等方面具有重要意义, 保护区基于气候、海拔、土壤等多种环境因子综合调控, 孕育了丰富的生物资源^[34-35]。本研究首次对兴隆山东山 AM 真菌资源多样性进行调查研究, 并分析了海拔高度对其种属分布的影响, 研究结果是对我国 AM 真菌资源分布情况的有益补充。

利用 AM 真菌最新分类系统对高通量测序结果进行种属鉴定, 发现研究区内 AM 真菌可分为 4 目 8 科 13 属 52 种, 约占我国已知 AM 真菌总数的三分之一, 说明兴隆山东山 AM 真菌资源较丰富。因此, 后续工作应扩大调查范围, 对兴隆山自然保护区其余地区深入开展资源调查工作, 以全面了解和掌握该地区的 AM 真菌资源状况, 丰富我国已知 AM 真菌种质资源数据库。

不同 AM 真菌对环境因子的适应性不同, 常因

环境条件的差异而呈现不均衡分布^[36]。本研究表明, 兴隆山东山不同海拔梯度下 AM 真菌优势种属随海拔变化呈现规律性变化, 其中球囊霉属在 2 209~2 313 m 海拔为优势属。尚昆等^[37]对梵净山不同海拔 AM 真菌多样性的研究表明, 球囊霉属在梵净山地区主要分布于 1 800 m 海拔以下地区, 在 2 100~2 200 m 海拔范围内未见其分布, 而蔡晓布和彭岳林^[38]研究发现, 球囊霉属可在西藏高原 2 200~5 300 m 海拔地区广泛分布, 说明 AM 真菌在水平和垂直方向的种属分布可能受海拔及由此引致的温度等因素的调控, 且球囊霉属具有较为广泛的生态适应性, 可分别在低、中、高海拔地区生存。

诸多研究表明, 同一研究区内, 不同海拔梯度下 AM 真菌丰富度及物种多样性存在显著差异^[38-39]。本研究中 AM 真菌丰富度指数在部分海拔间存在显著差异, 且随海拔变化呈现出“单峰”分布, 但物种多样性指数在不同海拔梯度间差异较小, 未表现出显著差异。Gai 等^[40]对西藏高原地区 AM 真菌多样性研究发现, 随海拔高度的增加, AM 真菌物种多样性指数无明显变化, 这与本研究结果保持一致, 但尚昆等^[37]和 Wu 等^[41]对梵净山和富士山 AM 真菌群落相关研究中发现, AM 真菌多样性随海拔的增加分别呈现出增加和减少的趋势。由此可见, 不同

表 2 不同海拔 arbuscular mycorrhizal 真菌物种组成
Table 2 The composition of arbuscular mycorrhizal fungal species at different altitudes

种 Species	海拔 Altitude/m							
	2 168	2 209	2 261	2 313	2 361	2 408	2 466	2 601
<i>Acaulospora mellea</i>			+		+			
<i>Ambispora</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Archaeospora</i> sp. LH-Ar02	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Archaeospora</i> sp. LH-Ar03	+			+	+	+	+	+
<i>Archaeospora</i> sp. Mueller15	+	+	+	+	+	++	+	+
<i>Archaeospora</i> sp.1	++	+	++	++	++	+	++	++
<i>Archaeospora</i> sp.2	+	++	+	+	+	+	+	+
<i>Archaeospora</i> sp.3	+	++	+	++	++	+	+	++
<i>Archaeospora</i> sp.4	+	+	+	+	+	+		+
<i>Archaeospora</i> sp.5		+	+	+	+	+	+	+
<i>Archaeospora</i> sp.6	+	+		+	+	+	+	+
<i>Claroideoglossum claroideum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Claroideoglossum</i> sp. GLBa1.1	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Claroideoglossum</i> sp.1	++	++	++	+++*	++	++	++	++
<i>Claroideoglossum</i> sp.2	++	+	++	+	+	++	++	+
<i>Claroideoglossum</i> sp.3	+	+		+			+	
<i>Diversispora aurantia</i>	+				+	+	+	+
<i>Diversispora</i> sp. Clade-2	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Diversispora trimurales</i>	+			+	+	+		+
<i>Dominikia indica</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Funneliformis caledonium</i>	+	+	+		+		+	
<i>Gigaspora margarita</i>							+	+
<i>Glomus albidum</i>							+	
<i>Glomus ambisporum</i>	+	+	++	+	+	++	+	+
<i>Glomus flavisporum</i>	++	+	++	+	+	+	+	+
<i>Glomus macrocarpum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Glomus microcarpum</i>				+	+	+	+	+
<i>Glomus multicaule</i>	+	+	+	+	+	++	+	+
<i>Glomus</i> sp. SG07	+	+	+		+			
<i>Glomus</i> sp. Yoshimura13a	+	+					+	+
<i>Glomus</i> sp.1					+		+	
<i>Glomus</i> sp.2	+	+		+	+	+		+
<i>Glomus</i> sp.3			+	+	+	+	+	+
<i>Glomus</i> sp.4	+							
<i>Glomus</i> sp.5	+	+	+	++	+	+	++	++
<i>Glomus</i> sp.6		+	+		+	+		+
<i>Glomus</i> sp.7		+		+	+	+	+	+
<i>Glomus</i> sp.8	++	+++*	+++*	+++*	+	++	+++*	+

续表 2
Table 2 (Continued)

种 Species	海拔 Altitude/m							
	2 168	2 209	2 261	2 313	2 361	2 408	2 466	2 601
<i>Glomus</i> sp.9	++	+	++	++	+	+	++	+
<i>Glomus</i> sp.10	+		+	+			+	+
<i>Glomus</i> sp.11	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Glomus</i> sp.12				+	+		+	+
<i>Paraglomus laccatum</i>	+		+	+	+			
<i>Paraglomus</i> sp. Para2				+	+			+
<i>Paraglomus</i> sp.1	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Paraglomus</i> sp.2	+++*	+++*	++	+++*	+++*	+++*	+++*	+++*
<i>Paraglomus</i> sp.3	+			+	+			+
<i>Paraglomus</i> sp.4		+	+		+	+		+
<i>Rhizophagus vesiculiferus</i>	+	+	+	++	+	+	+	++
<i>Sclerocystis coremioides</i>	++	+	++	++	+	++	+	+
<i>Sclerocystis sinuosa</i>	+							
<i>Scutellospora dipurpurescens</i>	+	+		+	+	+	+	+

“+”表示 AM 真菌种在该海拔区域出现, 按照物种丰度进行分级: 0~1 000 为+, 1 000~5 000 为++, ≥ 5 000 为+++; “*”代表优势种。
“+” indicates the presence of AM fungi at this altitude; the species abundance is graded as follows: +, ++, and +++ represent 0 ~ 1 000, 1 000 ~ 5 000, and ≥ 5 000 m, respectively; “*” indicates the dominant species.

地区 AM 真菌多样性分布随海拔变化的分布状况不尽一致。与此类似, 研究区不同, 海拔高度对 AM 真菌丰富度指数的影响也不同。李晓亮^[42]对藏东南地区海拔对 AM 真菌多样性及群落结构影响的研究发现, 海拔可直接影响 AM 真菌 OTU 丰富度, 而李龙等^[43]在高黎贡山的研究中表示, 随海拔的升高,

AM 真菌丰富度指数逐渐降低, 但其原因主要是不同海拔间植物丰富度和土壤理化性质不同而引起的变化, 即海拔间接影响该地区 AM 真菌物种丰富度。
根据不同海拔间 AM 真菌多样性分布结果分析可知, AM 真菌物种丰富度及多样性受海拔因子的调控。本研究中, 研究区内 AM 真菌资源分布特征

表 3 不同海拔 arbuscular mycorrhizal 真菌多样性指数
Table 3 Diversity indices for arbuscular mycorrhizal fungi at different altitudes

海拔 Altitude/m	97%相似水平 Similarity of 97%					
	Chao1指数 Chao1 index	ACE指数 ACE index	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	覆盖度 Coverage	
2 168	32.07 ± 2.15ab	34.82 ± 2.37a	1.02 ± 0.36	0.42 ± 0.16	0.999 99 ± 0.000 00	
2 209	24.10 ± 0.53c	27.69 ± 2.72ab	1.03 ± 0.23	0.43 ± 0.11	0.999 93 ± 0.000 00	
2 261	26.80 ± 2.25abc	28.08 ± 2.46ab	0.98 ± 0.29	0.39 ± 0.13	0.999 94 ± 0.000 00	
2 313	26.17 ± 2.32abc	28.42 ± 2.80ab	1.29 ± 0.20	0.51 ± 0.08	0.999 96 ± 0.000 00	
2 361	33.17 ± 3.34a	35.99 ± 5.57a	1.34 ± 0.34	0.52 ± 0.14	0.999 97 ± 0.000 00	
2 408	24.20 ± 1.83c	20.32 ± 5.38b	1.00 ± 0.23	0.38 ± 0.97	0.999 98 ± 0.000 00	
2 466	23.65 ± 3.57c	25.56 ± 3.72ab	1.32 ± 0.33	0.53 ± 0.14	0.999 98 ± 0.000 00	
2 601	24.70 ± 1.66bc	26.79 ± 2.08ab	0.84 ± 0.33	0.30 ± 0.12	0.999 96 ± 0.000 00	

不同小写字母表示同一指数不同海拔间差异显著($P < 0.05$)。
Different lowercase letters within the same column indicate significant difference between the different altitudes at the 0.05 level.

在一定程度上受海拔变化的影响,但相关性不显著。经分析,原因可能有以下两个方面:一是研究区内海拔跨度较小,不同海拔间环境条件基本一致,不足以引起 AM 真菌群落的显著性差异。蔡晓布和彭岳林^[35]对青藏高原 AM 真菌群落相似度分析结果表明,同一海拔区内,不同海拔梯度间差异越小,其 AM 真菌群落特征相似性越高;Pérez 和 Frangi^[44]也发现,在草原生态系统中,绝对海拔低且海拔间跨度较小时,海拔对 AM 真菌群落无影响。二是影响 AM 真菌种属组成及多样性分布的环境因素较多,如植物种类、土壤有机质、pH、温度、降水量等,推测海拔高度可能不是直接影响兴隆山东山 AM 真菌资源分布的主导因子,但具体情况有待进一步研究。

此外,本研究中 AM 真菌资源在 2 168 m 海拔梯度的分布状况并不遵循其他海拔的变化规律,分析原因可能是该海拔位于东山旅游区入口附近,受人类活动干扰较大,致使其 AM 真菌群落随海拔等环境因子的规律性分布遭到了破坏,应加以保护。

4 结论

甘肃省兴隆山东山 AM 真菌资源丰富,约 52 种,隶属于 4 目 8 科 13 属,其中 *Glomus* 和 *Paraglomus* 为优势属,*Glomus albidum*、*Acaulospora mellea*、*Gigaspora margarita*、*Glomus* sp.1、*Glomus* sp.4、*Sclerocystis sinuosa* 为部分海拔特有种,上述优势物种及特有种分布表现出了一定的海拔特异性。

参考文献 References:

- [1] 刘润进, 陈应龙. 菌根学. 北京: 科学出版社, 2007.
LIU R J, CHEN Y L. Mycorrhizology. Beijing: Science Press, 2007.
- [2] SMITH S E, READ D J. Mycorrhizal Symbiosis. Cambridge, UK: Academic Press, 2008.
- [3] MARTIN C A, MORTON J B, STUTZ J C, COPEMAN R. Patterns of species composition and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in arid regions of southwestern North America and Namibia, Africa. *Canadian Journal of Botany*, 2000, 78(2): 237-245.
- [4] TROEH Z I, LOYNACHAN T E. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungal species in soils of cultivated soybean fields. *Agronomy Journal*, 2009, 101(6): 1453-1462.
- [5] HARNER M J, OPITZ N, GELUSO K, TOCKNER K, RILLIG M C. Arbuscular mycorrhizal fungi on developing islands within a dynamic river floodplain: An investigation across successional gradients and soil depth. *Aquatic Sciences*, 2011, 73(1): 35-42.
- [6] 蔡晓布, 彭岳林. 青藏高原草地生态系统丛枝菌根真菌的地理分布. *生态学报*, 2016, 36(10): 2807-2818.
CAI X B, PENG Y L. Geographical distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in the grassland ecosystems of the Tibetan Plateau. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(10): 2807-2818.
- [7] MIRZAEI J, MORADI M. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in *Amygdalus scoparia* Spach plantations and a natural stand. *Journal of Forestry Research*, 2017(6): 107-115.
- [8] 任建廷. 风积沙采煤沉陷区 AM 真菌与其它土壤微生物的多样性及其分布. 呼和浩特: 内蒙古大学博士学位论文, 2017.
REN J T. Biodiversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and other soil microorganism of aeolian sandy coal mining subsidence area. PhD Thesis. Hohhot: Inner Mongolia University, 2017.
- [9] 李桂真, 陈志超, 李新川, 盛建东, 黄长福, 金俊香. 新疆盐生植物芦苇根围 AM 真菌的空间分布特征. *草业科学*, 2016, 33(7): 1267-1274.
LI G Z, CHEN Z C, LI X C, SHENG J D, HUANG C F, JIN J X. Spatial distribution characteristics of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of halophytes *Phragmites australis* in Xinjiang. *Pratacultural Science*, 2016, 33(7): 1267-1274.
- [10] IBIJBIJEN J, URQUIAGA S, ISMAILI M, ALVES B J R, BODDEY R M. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition and nitrogen fixation of three varieties of common beans (*Phaseolus vulgaris*). *New Phytologist*, 2010, 134(2): 353-360.
- [11] ABDEL-FATTAH G M, ASRAR A A, AL-AMRI S M, ABDEL-SALAM E M. Influence of arbuscular mycorrhiza and phosphorus fertilization on the gas exchange, growth and phosphatase activity of soybean (*Glycine max* L.) plants. *Photosynthetica*, 2014, 52(4): 581-588.

- [12] DARE M O, ABAIDOO R C, FAGBOLA O, ASIEDU R. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation and phosphorus application on yield and nutrient uptake of Yam. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2010, 41(22): 2729-2743.
- [13] BENDER S F, CONEN F, VAN D H M G A. Mycorrhizal effects on nutrient cycling, nutrient leaching and N₂O production in experimental grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 80: 283-292.
- [14] LEIFHEIT E, VERESOGLOU S, LEHMANN A, MORRIS E, RILLIG M. Multiple factors influence the role of arbuscular mycorrhizal fungi in soil aggregation-a meta-analysis. *Plant and Soil*, 2014, 374(1/2): 523-537.
- [15] 张伟珍, 丁婷婷, 段廷玉. 两种 AM 真菌对箭筈豌豆生长及炭疽病发生的影响. *草业科学*, 2020, 37(2): 320-329.
ZHANG W Z, DING T T, DUAN T Y. Effect of two kinds of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and anthracnose of *Vicia sativa*. *Pratacultural Science*, 2020, 37(2): 320-329.
- [16] 林子然, 张英俊. 丛枝菌根真菌和磷对干旱胁迫下紫花苜蓿幼苗生长与生理特征的影响. *草业科学*, 2018, 35(1): 115-122.
LIN Z R, ZHANG Y J. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus on growth and physiological properties of alfalfa seedlings under drought stress. *Pratacultural Science*, 2018, 35(1): 115-122.
- [17] EVELIN H, KAPOOR R. Arbuscular mycorrhizal symbiosis modulates antioxidant response in salt-stressed *Trigonella foenum-graecum* plants. *Mycorrhiza*, 2014, 24(3): 197-208.
- [18] 李信茹, 米屹东, 魏源, 周民. 丛枝菌根真菌-植物共生体系在重金属污染土壤修复上的研究进展. *现代化工*, 2020, 40(5): 14-18.
LI X R, MI Y D, WEI Y, ZHOU M. Research progress on applications of arbuscular mycorrhizal fungi-plant symbiotic system in remediation of heavy metals contaminated soil. *Modern Chemical Industry*, 2020, 40(5): 14-18.
- [19] MANAUT N, SANGUIN H, OUAHMANE L, BRESSAN M, THILOULOUSE J, BAUDOUIN E, GALIANA A, HAFIDI M, PRIN Y, DUPONNOIS R. Potentialities of ecological engineering strategy based on native arbuscular mycorrhizal community for improving afforestation programs with carob trees in degraded environments. *Ecological Engineering*, 2015, 79: 113-119.
- [20] 陈运雷, 麦志通, 罗静, 陈伟玉, 蔡开朗. 丛枝菌根真菌及其在石灰岩地区植物恢复中的应用. *热带林业*, 2017, 45(4): 25-28.
CHEN Y L, MAI Z T, LUO J, CHEN W Y, CAI K L. Arbuscular Mycorrhizae Fungi and its application in plant restoration of limestone areas. *Tropical Forestry*, 2017, 45(4): 25-28.
- [21] 黄艳飞, 吴庆丽, 万群, 舒彬. 丛枝菌根真菌的研究进展. *现代农业*, 2019(12): 9-12.
HUANG Y F, WU Q L, WAN Q, SHU B. Research on the progress of arbuscular mycorrhizal fungi. *Modern Agriculture*, 2019(12): 9-12.
- [22] 王永明, 范洁群, 石兆勇. 中国丛枝菌根真菌分子多样性. *微生物学通报*, 2018, 45(11): 2399-2408.
WANG Y M, FAN J Q, SHI Z Y. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungal in China. *Microbiology China*, 2018, 45(11): 2399-2408.
- [23] 徐涛. 兴隆山自然保护区生物多样性现状监测. *绿色科技*, 2016(24): 94, 97.
XU T. Biodiversity monitoring in Xinglong Mountain Nature Reserve. *Journal of Green Science and Technology*, 2016(24): 94, 97.
- [24] VAN D H M G A, KLIRONOMOS J N. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 1998, 396: 69-72.
- [25] 魏强, 凌雷, 张广忠, 柴春山, 闫沛斌, 陶继新. 甘肃兴隆山主要森林类型土壤渗透性. *东北林业大学学报*, 2013, 41(3): 57-62.
WEI Q, LING L, ZHANG G Z, CHAI C S, YAN P B, TAO J X. Soil infiltration characteristics of main forest types in Xinglong Mountain of Gansu. *Journal of Northeast Forestry University*, 2013, 41(3): 57-62.
- [26] 魏强, 凌雷, 王多锋, 柴春山, 王芳, 钟怡铭, 陶继新, 张广忠, 李国林. 不同海拔甘肃兴隆山主要森林群落的土壤理化性质. *西北林学院学报*, 2019, 34(4): 26-35.
WEI Q, LING L, WANG D F, CHAI C S, WANG F, ZHONG Y M, TAO J X, ZHANG G Z, LI G L. Soil physicochemical properties of three main forest communities at different altitudes in Xinglong Mountain of Gansu Province. *Journal of Northwest Forestry University*, 2019, 34(4): 26-35.
- [27] MAGOČ T, SALZGERG S L. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [28] BOLGER A M, MARC L, BJOERN U. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 2014, 30(15): 1-7.

- [29] EDGAR R C, HAAS B J, CLEMENTE J C, QUINCE C, KNIGHT R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, 2011, 27(16): 2194-2200.
- [30] EDGAR R C. UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996.
- [31] 周光荣, 尚昆, 江龙. 野生油茶根围土壤的 AM 真菌多样性调查. 贵州大学学报(自然科学版), 2019, 36(6): 26-31.
ZHOU G R, SHANG K, JIANG L. Diversity survey of AM fungi in rhizosphere soil of Wild *Camellia oleifera*. Journal of Guizhou University (Natural Sciences), 2019, 36(6): 26-31.
- [32] 郭静, 罗培宇, 杨劲峰, 李冬冬, 黄月玥, 韩晓日. 长期施肥对棕壤丛枝菌根真菌群落结构及其侵染的影响. *中国农业科学*, 2018, 51(24): 4677-4689.
GUO J, LUO P Y, YANG J F, LI D D, HUANG Y Y, HAN X R. Influence of long-term fertilization on community structures and colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in a brown soil. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(24): 4677-4689.
- [33] 余建英, 何旭宏. 数据统计分析与 SPSS 应用. 北京: 人民邮电出版社, 2003.
YU J Y, HE X H. Statistical Analysis of Data and Application of SPSS. Beijing: Posts & Telecom Press, 2003.
- [34] 陈蕾, 徐涛. 兴隆山自然保护区自然环境初步研究. 绿色科技, 2017(12): 181-182.
CHEN L, XU T. A preliminary study on the natural environment of Xinglong Mountain Nature Reserve. Journal of Green Science and Technology, 2017(12): 181-182.
- [35] 白彩霞. 兴隆山自然保护区生态评价及存在的问题与对策. 农业科技与信息, 2018(5): 55-56.
BAI C X. Ecological evaluation of Xinglong Mountain Nature Reserve and its existing problems and countermeasures. Agricultural Science-Technology and Information, 2018(5): 55-56.
- [36] 刘润进, 焦惠, 李岩, 李敏, 朱新产. 丛枝菌根真菌物种多样性研究进展. 应用生态学报, 2009, 37(3): 2301-2307.
LIU R J, JIAO H, LI Y, LI M, ZHU X C. Research advances in species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, 37(3): 2301-2307.
- [37] 尚昆, 石磊, 李海波, 姚莉梅, 周光荣, 江龙. 梵净山不同海拔丛枝菌根真菌多样性. 东北林业大学学报, 2020, 48(2): 76-80.
SHANG K, SHI L, LI H B, YAO L M, ZHOU G R, JIANG L. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in different heights of Fanjingshan Mountain. Journal of Northeast Forestry University, 2020, 48(2): 76-80.
- [38] 蔡晓布, 彭岳林. 西藏高原不同海拔区域丛枝菌根真菌群落的变化. 应用生态学报, 2015, 26(9): 2803-2810.
CAI X B, PENG Y L. Change of arbuscular mycorrhizal fungi community in response to elevational gradients on the Tibetan Plateau, China. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(9): 2803-2810.
- [39] LUGO M A, FERRERO M, MENOYO E, ESTEVEZ M C, SIÑERIZ F, ANTON A. Arbuscular mycorrhizal fungi and rhizospheric bacteria diversity along an altitudinal gradient in south american puna grassland. *Microbial Ecology*, 2008, 55(4): 705-713.
- [40] GAI J P, TIAN H, YANG F Y, CHRISTIE P, LI X L, KLIRONOMOS J N. Arbuscular mycorrhizal fungal diversity along a Tibetan elevation gradient. *Pedobiologia*, 2012, 55(3): 145-151.
- [41] WU B, HOGETSU T, ISOBE K, ISHII R. Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in a primary successional volcanic desert on the southeast slope of Mount Fuji. *Mycorrhiza*, 2007, 17(6): 495-506.
- [42] 李晓亮. 藏东南地区海拔和土地利用方式对丛枝菌根真菌多样性和群落结构的影响. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 2015.
LI X L. Influence of elevation and land use types on diversity and community composition of arbuscular mycorrhizal fungi in Southeast Tibet. PhD Thesis. Beijing: China Agricultural University, 2015.
- [43] 李龙, 李丽, 伍建榕, 李博伦, 张俊忠, 刘丽, 马焕成. 高黎贡山丛枝菌根真菌多样性研究. *贵州农业科学*, 2017, 45(12): 45-50.
LI L, LI L, WU J R, LI B L, ZHANG J Z, LI L, MA H C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in Gaoligong Mountain. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2017, 45(12): 45-50.
- [44] PÉREZ C A, FRANGI J L. Grassland biomass dynamics along an altitudinal gradient in the Pampa. *Journal of Range Management*, 2000, 53(5): 518-528.

(责任编辑 王芳)