



不同风化年限碳酸岩风化壳真菌群落结构特征

赵向维, 陈进, 李方兵, 严令斌, 喻理飞*

贵州大学生命科学学院 农业生物工程研究院 山地植物资源保护与种质创新教育部重点实验室, 贵州 贵阳 550025

赵向维, 陈进, 李方兵, 严令斌, 喻理飞. 不同风化年限碳酸岩风化壳真菌群落结构特征[J]. 微生物学报, 2023, 63(3): 1152-1167.

ZHAO Xiangwei, CHEN Jin, LI Fangbing, YAN Lingbin, YU Lifei. Community structure of fungi in crust of carbonate weathered for different time[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(3): 1152-1167.

摘要: 【目的】岩生真菌是促进碳酸岩生物风化的重要推动者, 研究黔中典型喀斯特区不同风化年限碳酸岩风化壳真菌群落结构特征有利于了解真菌对岩石的风化作用。【方法】选取位于黔中花溪区南部的废弃碳酸岩墓碑为调查对象, 对不同风化年限碳酸岩风化壳进行采样, 运用宏基因组测序方法对风化壳样品进行基因测序, 并利用统计学方法对真菌群落结构特征及功能特征进行分析。【结果】18个风化壳样品中共获得1 087种真菌, 分属于9个门、44纲、538属。不同样本之间真菌群落数量和组成差异较大, 在碳酸岩风化过程中, 子囊菌门(*Ascomycota*)始终为优势类群, 平均相对丰度达到95%以上, 随风化年限的增加呈现显著下降的趋势。Shannon指数和Simpson指数显示, 碳酸岩风化壳真菌群落多样性随风化年限的增加呈现先减小后增加再减小的趋势。从所有样本中共检测出3 379 478个KEGG pathway level 3通路相关基因, 主要与物质能量的代谢、运输等功能相关。与碳循环、氮循环和硫循环相关的主要微生物属于子囊菌门, 随着风化年限的增加呈现下降的趋势。冗余分析(redundancy analysis, RDA)结果表明, 三氧化二铁(ferric oxide, Fe_2O_3)、全氮(total nitrogen, TN)和全磷(total phosphorus, TP)是影响不同风化年限风化壳真菌群落结构演替的重要环境因子。【结论】碳酸岩的风化强度随风化年限的增加而增加, 这相应增加了岩石表面微生境的形成, 提供了物质累积的条件, 为微生

资助项目: 国家重点研发计划(2016YFC0502604); 贵州省生物学一流学科建设项目(GNYL[2017]009); 贵州省高等学校创新能力提升计划(黔教合协同创新字[2014]01); 贵州省研究生科研基金项目(黔教合 YJSKYJJ[2021]079); 贵州省教育厅自然科学研究项目(黔教合 KY 字[2018]170)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2016YFC0502604), the Construction Program of Biology First-class Discipline in Guizhou (GNYL[2017]009), the Project of Promoted Innovation for Colleges and Universities of Guizhou Province (Qian Jiao He Collaborative Innovation [2014]01), the Postgraduate Education Innovation Program in Guizhou Province (Qian Jiao He YJSKYJJ[2021]079), and the Natural Science Research Project of Guizhou Provincial Department of Education (Qian Jiao He KY Zi [2018]170).

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

Received: 2022-07-18; Accepted: 2022-10-17; Published online: 2022-10-26

物特别是真菌的定殖提供了条件。不同风化年限碳酸岩风化壳真菌群落存在明显差异, 碳酸岩表面真菌群落随风化年限的增加, 其繁殖策略也在发生转变(从 r-策略到 K-策略)。

关键词: 喀斯特; 溶蚀; 生物风化; 岩生真菌; 演替

Community structure of fungi in crust of carbonatite weathered for different time

ZHAO Xiangwei, CHEN Jin, LI Fangbing, YAN Lingbin, YU Lifei*

Key laboratory of Plant Resources Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region (Ministry of Education), Institute of Agro-Bioengineering, College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

Abstract: [Objective] Lithogenic fungi play an important role in the biological weathering of carbonatite. It is of great significance for understanding the weathering effect of fungi on rocks to investigate the community structure of fungi in weathering crust of carbonatite weathered for different time in typical karst areas of central Guizhou. [Methods] The abandoned carbonatite headstones in the south of Huaxi District in central Guizhou were selected and the weathering crust of carbonatite weathered for different time was sampled, followed by metagenomic sequencing of the samples. Moreover, statistical methods were used to analyze the structural and functional characteristics of fungal communities. [Results] A total of 1 087 fungal species were identified from 18 weathering crust samples, which belonged to 538 genera, 44 classes, and 9 phyla. The number and composition of fungal communities varied greatly among different samples. During the weathering of carbonatite, *Ascomycota* dominated the fungi, and the average relative abundance was >95%. The abundance showed significant decreasing trend with the weathering. According to the Shannon index and Simpson index, the diversity of fungi community in the crust decreased first, then increased, and finally reduced with the weathering. A total of 3 379 478 genes related to KEGG pathway level 3 were detected from all samples, which were mainly involved in the metabolism and transportation of materials and energy. The main microbiota related to carbon cycle, nitrogen cycle, and sulfur cycle belonged to *Ascomycota*, which showed a decreasing trend with the weathering. The results of redundancy analysis (RDA) suggested that ferric oxide (Fe_2O_3), total nitrogen (TN), and total phosphorus (TP) were important environmental factors affecting the community structure succession of fungi on the crust. [Conclusion] The weathering of carbonatite intensifies over time, which allows for the formation of microhabitat on rock surface, thus the material accumulation, and colonization of microorganisms, especially fungi. There were significant differences in the fungal communities of carbonatite weathered for different time. Fungal communities on carbonatite surface also change from r strategy to K strategy with the weathering.

Keywords: karst; dissolution; bioweathering; lithogenic fungi; succession

微生物具有高度的代谢多样性和在自然岩石中定居的高度适应性,率先在岩石表面定居,是岩石表面的先驱生物^[1]。裸露岩石上栖息的大量微生物均被证实参与了岩石的风化^[2]。已有研究发现,相较于其他微生物,真菌对岩石的风化效果最好^[3-4]。Sterflinger 等^[5]认为,在暴露于环境中的岩石上,由于真菌具有极强的腐蚀性,它们是引起岩石风化最重要的生物。真菌常常通过“生物点蚀”的方式深入碳酸岩内部^[6],在碳酸岩上形成直径和深度不等的不均匀坑^[7]。此外,真菌能与藻类和蓝细菌等光合生物形成地衣共生体以应对岩石表面的贫营养环境^[8],对干旱、低温环境具有非常强的适应性,使得真菌能广泛存在于环境恶劣的岩石上并加快岩石的风化过程。这暗示了真菌等微生物可能是早期生态系统功能和稳定性的关键因素^[9]。真菌等微生物在碳酸岩表层的生长繁殖过程中分泌有机酸、代谢物等能引起岩石风化,同时,真菌菌丝在岩石表面引起的物理机械力也能促进岩石风化^[10]。经过风化作用后依然残留保存在原地、覆盖于母岩上方的残积物即为风化壳,又可称为土壤母质^[11]。随着风化作用的加强,土层加厚,生物多样性在此基础上发展起来并随着风化年限的增加发展得更加丰富,从而产生生物演替效应^[12]。在碳酸岩漫长的风化成土历史中,真菌等岩石微生物具有重要作用。

碳酸岩属高档建筑结构材料和装饰材料,常见于室外地面、基座、台阶、纪念碑和墓碑等处。裸露的废弃墓碑表面营养匮乏、环境恶劣,真菌作为第一批定殖到新基质的微生物之一^[13],能加速废弃碳酸岩墓碑的风化,废弃墓碑的风化过程由促进真菌生长的环境因素和真菌共同引起^[14]。废弃墓碑上镌刻的立碑时间,是研究碳酸岩生物风化和初级微生物演替的理想时间标定方式。前人对岩石表面微生物的研究主要集中在微生物群落对石质文物的生物破坏与防治上^[15-16],真菌广泛存在于碳酸岩表面,但是其风化作用受到的

关注相对较少^[17]。不同风化年限碳酸岩风化壳真菌群落变化特征及其功能特征更是鲜见报道。本研究对黔中花溪区南部碳酸岩风化壳真菌群落结构特征以及功能特征进行研究,揭示碳酸岩风化过程中风化壳真菌群落的演替模式,有助于认识真菌等微生物对碳酸岩的生物风化过程。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于黔中花溪区南部(东经:106°27′-106°52′,北纬:26°11′-26°34′之间),受人为干扰较小。全区地貌以山地和丘陵为主,为典型的喀斯特地质区。该区属亚热带季风气候,年均气温 15 °C 以上;年均降雨量 1 200 mm 以上,最长连续降水日 15 d,雨量充沛;年均日照时数 1 100 h 以上,全年无霜期 339 d。冬无严寒,夏无酷暑,气候温和。

1.2 风化壳样品采集

选取位于黔中花溪区南部不同立碑时间的废弃碳酸岩墓碑(本研究选取的所有墓碑均为迁坟或其他原因导致的废弃墓碑)为调查对象。采样前,先将风化壳上着生的苔藓刮除,减小苔藓带来的实验误差。随后用角磨机磨掉废弃碳酸岩墓碑背面以及两个侧面的整个风化面,并确保在采样时角磨机的飞轮在每一块废弃墓碑风化壳的打磨时间大概相同。收集打磨掉的风化壳残积物,去除杂质(苔藓残体、枯枝落叶及较大石块)后装袋于-80 °C 条件下封存备用。共选取了 18 座废弃墓碑进行采样,根据立碑时间计算风化年限,废弃墓碑的暴露年限即为风化年限(公式 1)。

$$y = y_1 - y_2 \quad (1)$$

式中: y 为废弃墓碑的风化年限; y_1 为采样时间,用 2021 年(采样时间为 2021 年 5-6 月)减去立碑时间即为风化年限; y_2 为废弃墓碑上镌刻的立碑时间。废弃碳酸岩墓碑风化年限的时间跨度为 19-213 年(表 1)。

表 1 样地信息表

Table 1 Sample plot information table

Sample	Erection time	Weathering years (year)	Slope (°)	Aspect	Elevation (m)
S919	2002	19	8	Shady slope	1 155
S912	2001	20	9	Half sunny slope	1 150
S937	1999	22	6	Half sunny slope	1 158
S914	1998	23	8	Half sunny slope	1 148
S962	1998	23	3	Shady slope	1 164
S936	1987	34	7	Half sunny slope	1 167
S935	1984	37	7	Shady slope	1 146
S950	1984	37	5	Shady slope	1 162
S910	1982	39	8	Shady slope	1 169
S777	1974	47	3	Shady slope	1 157
S938	1963	58	5	Half sunny slope	1 168
S907	1949	72	8	Shady slope	1 120
S955	1945	76	3	Shady slope	1 150
S666	1933	88	6	Shady slope	1 155
S917	1917	104	8	Half sunny slope	1 161
S333	1888	133	2	Shady slope	1 134
S999	1860	161	5	Shady slope	1 149
S928	1808	213	6	Half sunny slope	1 168

1.3 风化壳理化分析

参照《土壤农业化学分析》对风化壳养分元素进行测定。有机碳(organic carbon, OC)含量采用重铬酸钾氧化-外加加热法测定;全氮(total nitrogen, TN)用凯氏定氮法测定(LY/T1228—2015);全磷(total phosphorus, TP)用 NaOH 熔融-钼锑抗比色法测定(LY/T1232—2015);全钾(total potassium, TK)采用消煮液+火焰光度法测定。

采用 X 射线荧光光谱仪(XRF, 型号: PANalytical Axios, RIGAKU ZSX Priums)测定风化壳样品的氧化物含量。测量的氧化物类型有三氧化二铁(ferric oxide, Fe₂O₃)、氧化铝(aluminium oxide, Al₂O₃)、氧化钾(potassium oxide, K₂O)、氧化钙(calcium oxide, CaO)、二氧化硅(silicon dioxide, SiO₂)、氧化镁(magnesium oxide, MgO)、二氧化钛(titanium dioxide, TiO₂)、氧化钠(sodium oxide, Na₂O)等。

烧失量(loss on ignition, LOI)是指在高温灼

烧下失去的质量占原始样品质量的百分比,不包括吸湿水,仅包括有机质和水合水。碳酸钙、镁须经 950 °C 高温灼烧才能使其中的二氧化碳分解并逸出,因此,用高温灼烧法测定碳酸岩风化壳烧失量^[18](公式 2)。

$$LOI(\%) = \left[\frac{(m3 - m2)}{m3 - m1} \right] \times 100 \quad (2)$$

式中: $m1$: 灼烧后空坩埚质量, g; $m2$: 灼烧后样品加坩埚质量, g; $m3$: 灼烧前坩埚加烘干土样品质量, g。

1.4 总 DNA 提取

将 18 个样品根据试剂盒要求对 DNA 进行提取,之后利用 TBS-380 检测 DNA 浓度,利用 NanoDrop200 和 1%琼脂糖凝胶电泳分别检测 DNA 纯度和完整性。通过 Covaris M220 (基因公司)将 DNA 片段化,筛选约 400 bp 的片段,用于构建文库。

1.5 风化壳基因测序

使用 Illumina NovaSeq/Hiseq Xten (Illumina)

测序平台进行宏基因组测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。原始数据已提交至 NCBI (登录号为 PRJNA848062)。

采用 fastp 对 reads 3端和 5端的 adapter 序列进行质量剪切。基于 succinct de Bruijn graphs 原理的拼接软件 MEGAHIT 对优化序列进行拼接组装。在拼接结果中筛选 ≥ 300 bp 的 contigs 作为最终的组装结果。使用 MetaGene 进行基因预测。对所有样品预测出来的基因序列以 90% 的一致性(90% identity)和 90%的覆盖度(90% coverage)进行聚类,每类取最长的基因作为代表序列,构建非冗余基因集。将非冗余基因集的氨基酸序列与 NR 数据库进行比对(BLASTp 比对参数设置期望值 e -value 为 $1e-5$),并通过 NR 库对应的分类学信息数据库获得物种注释,然后使用物种对应的基因丰度总和和计算该物种的丰度。

1.6 计算和统计分析

利用氧化物含量计算风化强度来衡量岩石风化壳的风化程度^[19](公式 3)。

$$W_s = 100 \times [1 - (E1 \times ave(t) + E2)] / 2 \quad (3)$$

式中: W_s 指风化强度, $E1$ 为 3 种绝对风化率(SiO_2/Al_2O_3 、 Al_2O_3/Fe_2O_3 、 R_2O_3/SiO_2)的均衡程度; 均衡度 E 计算公式见公式(4)。

$$E = e^{H(s)} / S \quad (4)$$

其中, $H(s)$ 计算见公式(5)。

$$H(s) = - \sum_{i=1}^s P_i \times \ln(P_i) \quad (5)$$

P_i 的计算见公式(6)。

$$P_i = n_i / N \quad (6)$$

N 为一组数值的综合, n_i 为第 i 个数的值, $\ln(P_i)$ 为 P_i 的自然对数。

$E2$ 为 7 种氧化物(SiO_2 、 Al_2O_3 、 Fe_2O_3 、 CaO 、 MgO 、 K_2O 、 Na_2O)变异系数的均衡度; $ave(t)$ 为 5 种氧化物(SiO_2 、 CaO 、 MgO 、 K_2O 、 Na_2O)淋失系数 t 的平均值(公式 7)。

$$t = 100 \times (t1 - t2) / t1 \quad (7)$$

$t1$ 为母岩中该氧化物的重量百分比; $t3$ 为风化壳中该氧化物的重量百分比。 $t2$ 计算见公式(8)。

$$t2 = 100 \times t3 \times (Al_2O_3)_{fresh} / (Al_2O_3)_{weathered} \quad (8)$$

碳循环(carbon cycle)、氮循环(nitrogen cycle)和硫循环(sulfur cycle)相关物种的相对丰度根据碳循环、氮循环和硫循环相关物种的丰度与总物种丰度的比值计算。

采用 R (R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>)进行数据多元分析,利用 Vegan 包进行 α 多样性指数计算(Chao1、Shannon 指数、Simpson 指数、ACE 指数和覆盖度)和风化强度的计算,用 Chao1 指数和 ACE 指数表征微生物群落丰富度,Shannon 指数和 Simpson 指数表征微生物群落多样性。采用 Vegan 包进行冗余分析(redundancy analysis, RDA)并利用 rdacca.hp 包基于层次分割计算每个环境因子的贡献率,用 ggplot2 绘制冗余分析图。

2 结果与分析

2.1 不同风化年限碳酸岩风化强度

研究发现,随风化年限增加岩石风化强度总体上呈现增加的趋势。在风化年限小于 100 年之前,岩石风化强度随风化年限的变化幅度较小;在大于 100 年之后,岩石风化强度变化较大,如图 1 所示。

2.2 不同风化年限碳酸岩风化壳理化性质

不同风化年限碳酸岩风化壳理化性质不同。其中,有机碳(OC)、全氮(TN)、全磷(TP)、全钾(TK)、氧化铝(Al_2O_3)、三氧化二铁(Fe_2O_3)、二氧化硅(SiO_2)和氧化钾(K_2O)含量随着风化年限的增加呈现减少的趋势,而氧化钙(CaO)含量随风化年限的增加呈现逐渐增加的趋势,如图 2 所示。

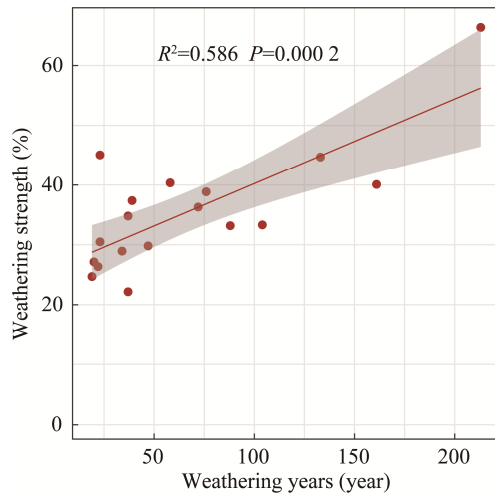


图1 风化强度与风化年限关系图

Figure 1 Relationship between weathering strength and weathering years.

2.3 不同风化年限风化壳真菌群落组成变化及多样性分析

2.3.1 不同风化年限风化壳真菌群落组成

为揭示废弃碳酸岩墓碑风化过程中风化壳真菌群落结构的变化及差异,对真菌门水平和属水平进行了分析。图 3A 展示了检测到的真菌门,图 3B 展示了属水平上平均相对丰度排名前 19 的属。结果表明,从 18 个样本中共检测到 9 个门、44 纲、538 属和 1 087 种真菌。在检测到的 9 个门中,有 8 个门为已知菌门,1 个未知菌门,样本之间相对丰度差异很大,具有较高的多样性。按降序排列为:子囊菌门(*Ascomycota*, 90.62%–99.17%),平均相对丰度达到 95%以上,

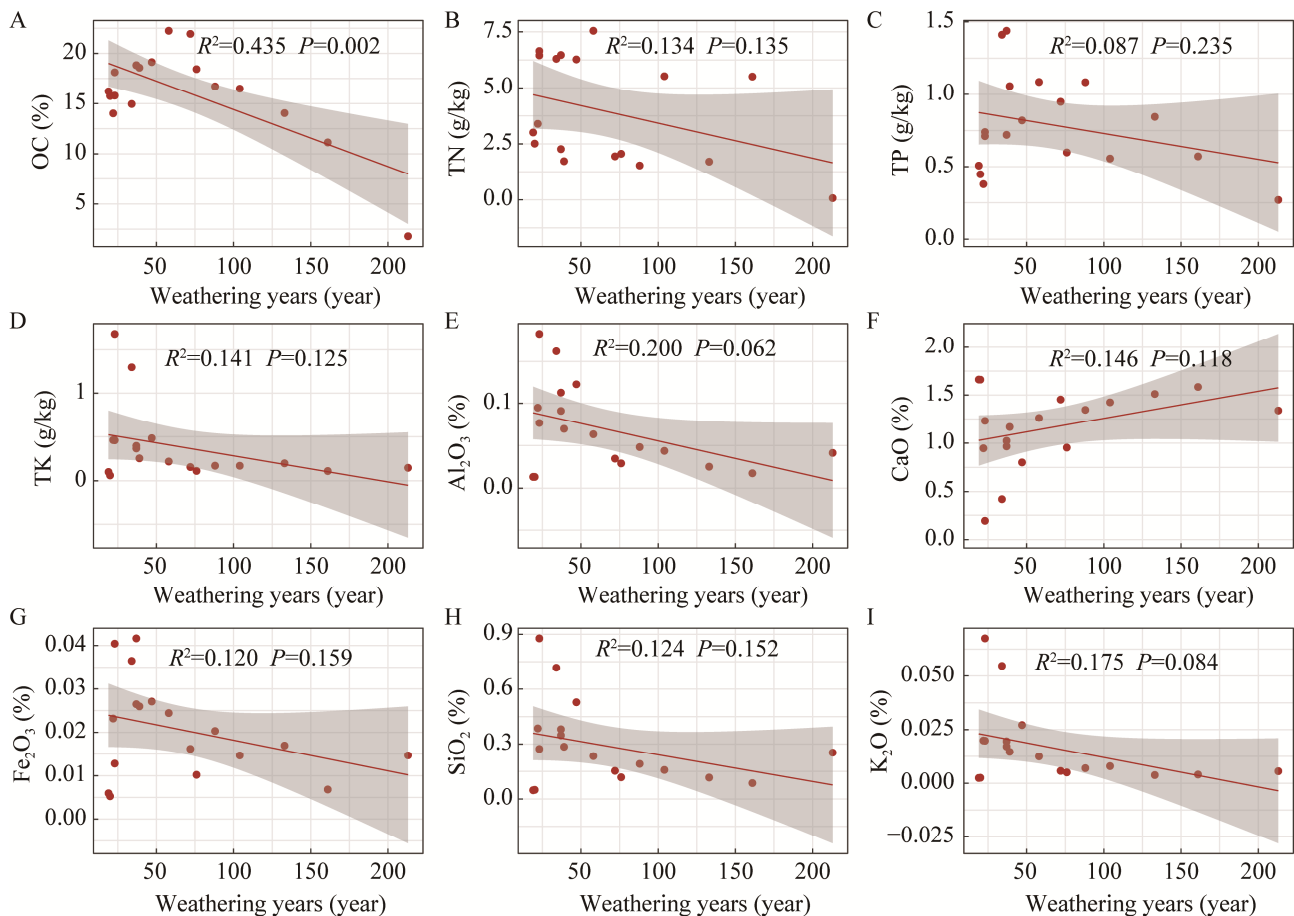


图2 不同风化年限碳酸岩风化壳理化性质

Figure 2 Physical and chemical properties of weathering crust of carbonatite with different weathering years. OC: Organic carbon; TN: Total nitrogen; TP: Total phosphorus; TK: Total potassium; Al_2O_3 : Aluminium oxide; CaO: Calcium oxide; Fe_2O_3 : Ferric oxide; SiO_2 : Silicon dioxide; K_2O : Potassium oxide.

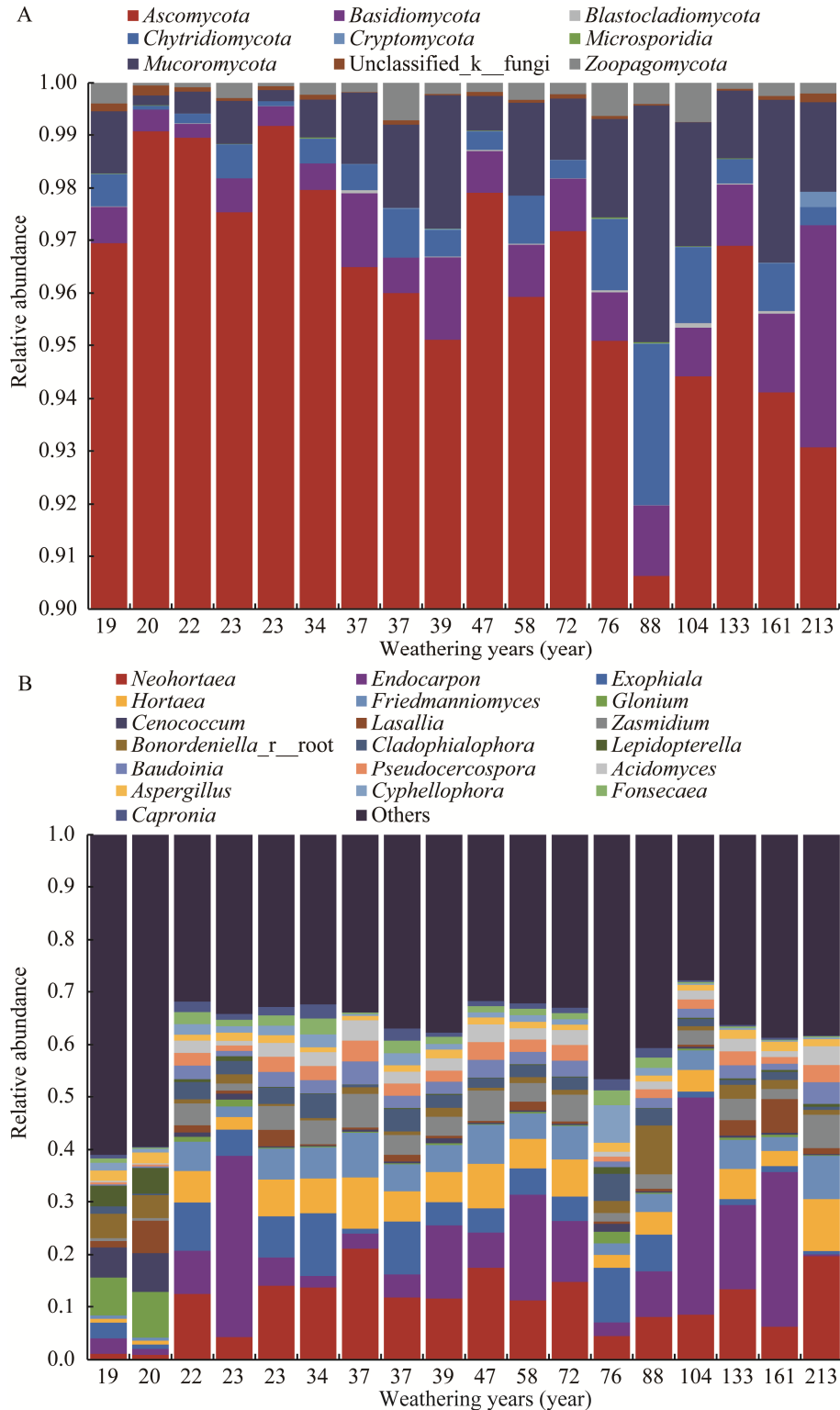


图 3 不同风化年限碳酸岩风化壳真菌群落组成相对丰度

Figure 3 Relative abundance of fungal community composition in carbonatite weathering crust with different weathering years. A: Characteristics of fungal communities at phylum level. B: Characteristics of fungal communities at genus level.

为绝对的优势门类。毛霉菌门(*Mucoromycota*, 0.19%–4.51%), 担子菌门(*Basidiomycota*, 0.26%–4.20%), 壶菌门(*Chytridiomycota*, 0.07%–3.05%), 捕虫霉门(*Zoopagomycota*, 0.04%–0.75%), 未知菌门(*unclassified_k_fungi*, 0.01%–0.20%), 芽枝菌门(*Blastocladiomycota*, 0–0.08%), 微孢子门(*Microsporidia*, 0–0.02%), 隐真菌门(*Cryptomycota*, 0–0.28%)。子囊菌是数量最多的类群, 是风化壳真菌的优势类群, 在不同样品中的相对丰度有很大差异, 变化范围从 90%–99%。子囊菌门、担子菌门、毛霉菌门和壶菌门是相对丰度较高的 4 个门, 是风化壳真菌的主要类群。在属水平上, 以 *Neohortaea* (10.84%)、石果衣属(*Endocarpon*, 11.78%) 和外瓶柄霉属(*Exophiala*, 4.9%) 为代表,

三者的含量达到了所有属含量的 25% 以上, 相对丰度最高, 为风化壳真菌的优势属。总体而言, 数据表明 18 个样本的真菌数量以及种类存在不均匀性。

2.3.2 不同风化年限风化壳主要真菌群落丰度变化

随风化年限的增加, 子囊菌门相对丰度有明显下降趋势($P < 0.05$), 但在整个风化过程中多样性始终最高(图 4), 是碳酸岩风化壳的优势真菌类群。担子菌门、壶菌门、毛霉菌门相对丰度随风化年限的增加逐渐增加。子囊菌门、担子菌门、毛霉菌门相对丰度变化均达到显著水平($P < 0.05$), 壶菌门相对丰度变化未达到显著水平($P > 0.05$)。

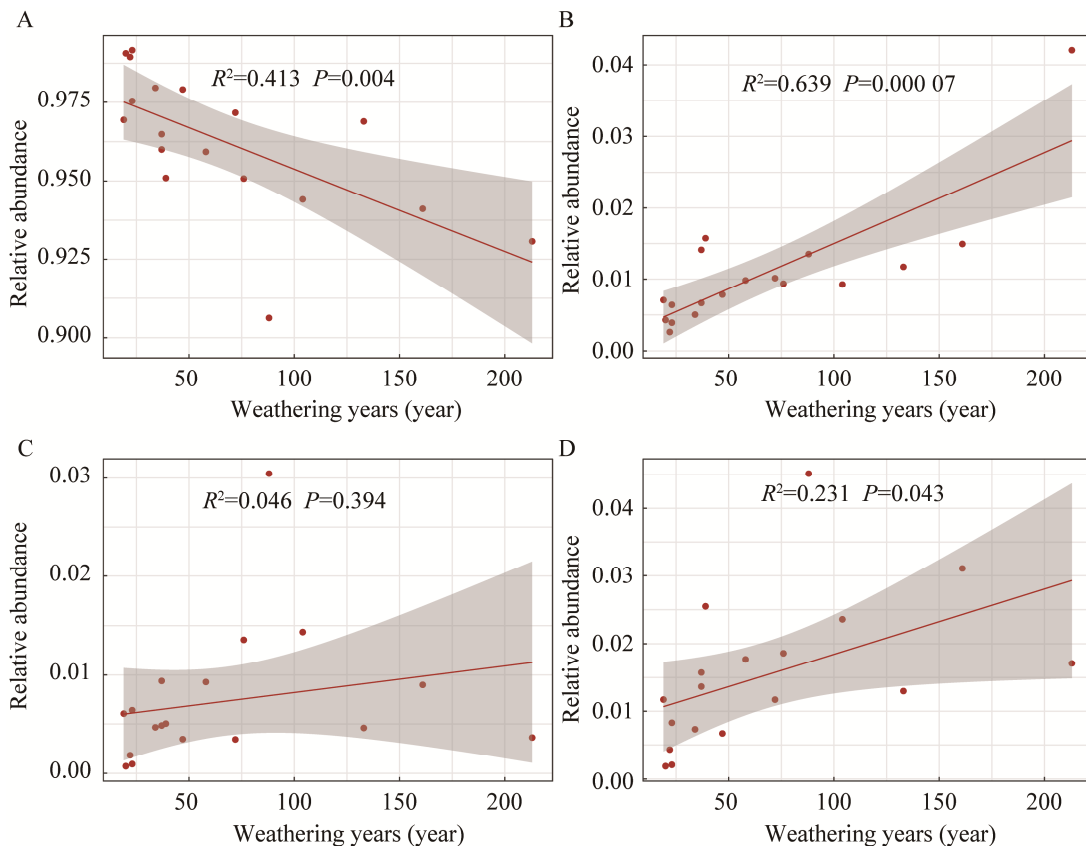


图 4 不同风化年限碳酸岩风化壳主要真菌类群相对丰度变化

Figure 4 Relative abundance changes of main fungal taxa in carbonatite weathering crust with different weathering years. A: Changes of relative abundance of *Ascomycota*. B: Changes of relative abundance of *Basidiomycota*. C: Changes of relative abundance of *Chytridiomycota*. D: Changes of relative abundance of *Mucoromycota*.

2.3.3 不同风化年限碳酸岩风化壳真菌群落多样性分析

由 α 多样性指数评价碳酸岩风化过程中风化壳真菌群落多样性(表 2)。由 Shannon 指数和 Simpson 指数可知, 真菌群落多样性随风化年限的增加呈现不规则的变化趋势, 总体上大概表现为先减小后增加再减小。碳酸岩风化过程中, 真菌发生了物种选择, 真菌群落结构在不断变化。总体而言, 研究结果表明不同风化年限碳酸岩风化壳样品之间真菌群落多样性差异较大。

2.4 碳酸岩风化过程中真菌功能基因分析

为了获得不同风化年限风化壳真菌的功能, 本研究使用 KEGG 数据库 pathway level 3 来比

较不同风化年限功能基因的相对丰度, 如图 5 所示。从所有样本中总共检测出 3 379 478 个 KEGG pathway level 3 功能通路相关基因。其中, 与代谢途径相关 (metabolic pathways, 10.82%–12.75%) 的占大多数, 其次是次生代谢物的生物合成(biosynthesis of secondary metabolites, 3.09%–5.03%), 不同环境中的微生物代谢 (microbial metabolism in diverse environments, 1.83%–2.85%), 与疾病相关(Huntington disease, Alzheimer disease, Parkinson disease, 3.65%–12.96%), 产热 (thermogenesis, 1.15%–3.75%), 氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, 0.98%–3.61%), 氨基酸的生物合成(biosynthesis of amino acids, 0.92%–1.59%)。

表 2 不同风化年限碳酸岩风化壳真菌多样性指数

Table 2 Fungal diversity index of carbonatite weathering crust with different weathering years

Sample	Weathering years (year)	Shannon index	Simpson index	Chao1 index	Ace index	Coverage index
S919	19	5.03	0.98	838	838	1
S912	20	4.82	0.97	1 414	870	1
S937	22	4.45	0.97	2 115	862	1
S914	23	4.07	0.88	757	757	1
S962	23	4.45	0.96	798	798	1
S936	34	4.37	0.97	2 924	747	1
S935	37	3.93	0.93	616	610	0.99
S950	37	4.65	0.97	713	713	1
S910	39	4.43	0.96	7 676	617	0.99
S777	47	4.15	0.95	5 098	773	1
S938	58	4.24	0.94	743	729	1
S907	72	4.27	0.95	761	737	1
S955	76	4.94	0.98	2 349	721	1
S666	88	4.57	0.97	5 170	663	1
S917	104	3.47	0.82	3 906	708	1
S333	133	4.28	0.95	756	750	1
S999	161	4.19	0.90	4 212	684	1
S928	213	3.99	0.94	369	369	1

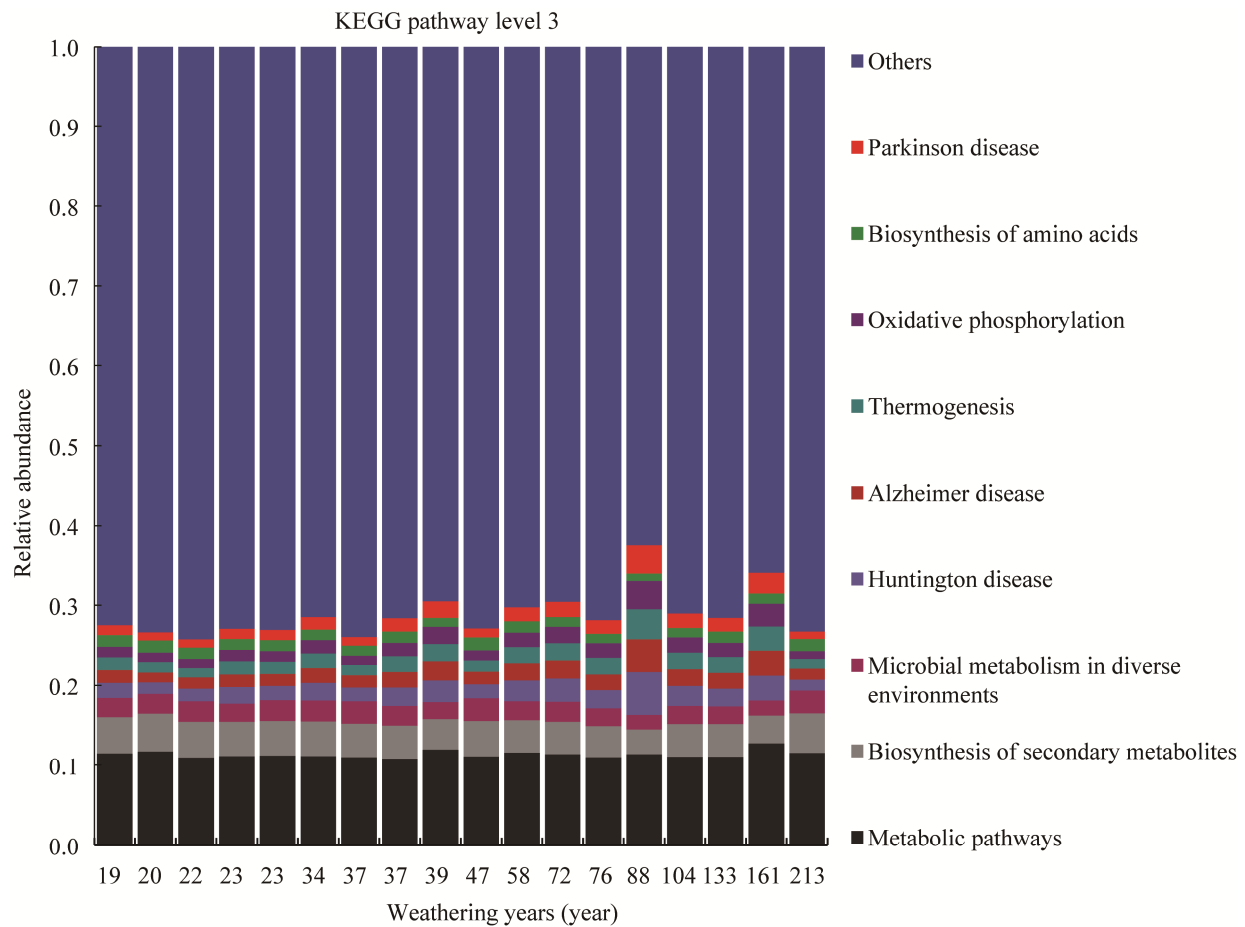


图 5 不同风化年限碳酸岩风化壳真菌 KEGG pathway level 3 相对丰度

Figure 5 Relative abundance of KEGG pathway level 3 of carbonatite weathering crust fungi with different weathering years.

2.5 碳酸岩风化过程中与碳循环、氮循环和硫循环有关的物种相对丰度变化

基于 NR 数据库, 共鉴定出 14 706 个与碳循环相关的物种、6 852 个与氮循环相关的物种和 4 140 个与硫循环相关的物种。随风化年限的增加, 与碳循环、氮循环和硫循环相关的物种相对丰度均呈现下降的趋势, 在风化年限为 20 年时丰度达到最大值, 随后物种相对丰度减小(图 6)。在纲水平上, 座囊菌纲(*Dothideomycetes*)和散囊菌纲(*Eurotiomycetes*)是碳循环、氮循环和硫循环过程中的主要微生物(图 7)。

2.6 不同风化年限碳酸岩风化壳真菌冗余分析

采用冗余分析探讨不同风化年限碳酸岩风化壳真菌群落结构及其与环境因子间的作用关系。第一排序轴和第二排序轴的解释量分别为 45.49% 和 19.35%, 12 个环境变量共能解释黔中花溪区南部废弃碳酸岩墓碑风化壳真菌类群水平变异程度的 64.84% (图 8A)。三氧化二铁 (Fe_2O_3)、全氮(TN)和全磷(TP)是影响风化壳真菌群落结构的主要因素, 贡献率分别都达到了 40% 以上(图 8B)。

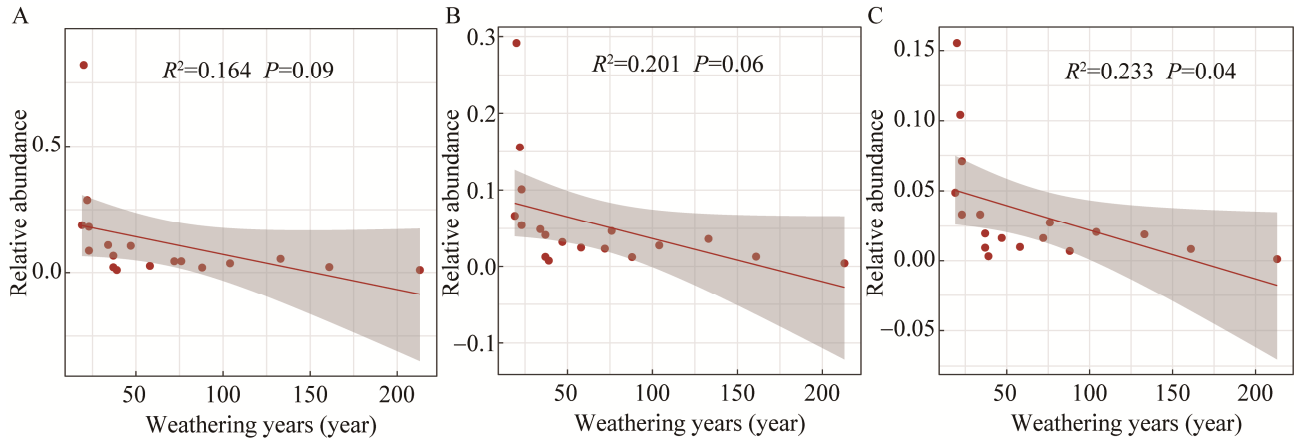


图 6 碳酸岩风化过程中与碳氮循环相关物种相对丰度变化

Figure 6 Changes in relative abundance of species associated with carbon and nitrogen cycles during carbonatite weathering. A: Carbon cycle. B: Nitrogen cycle. C: Sulfur cycle.

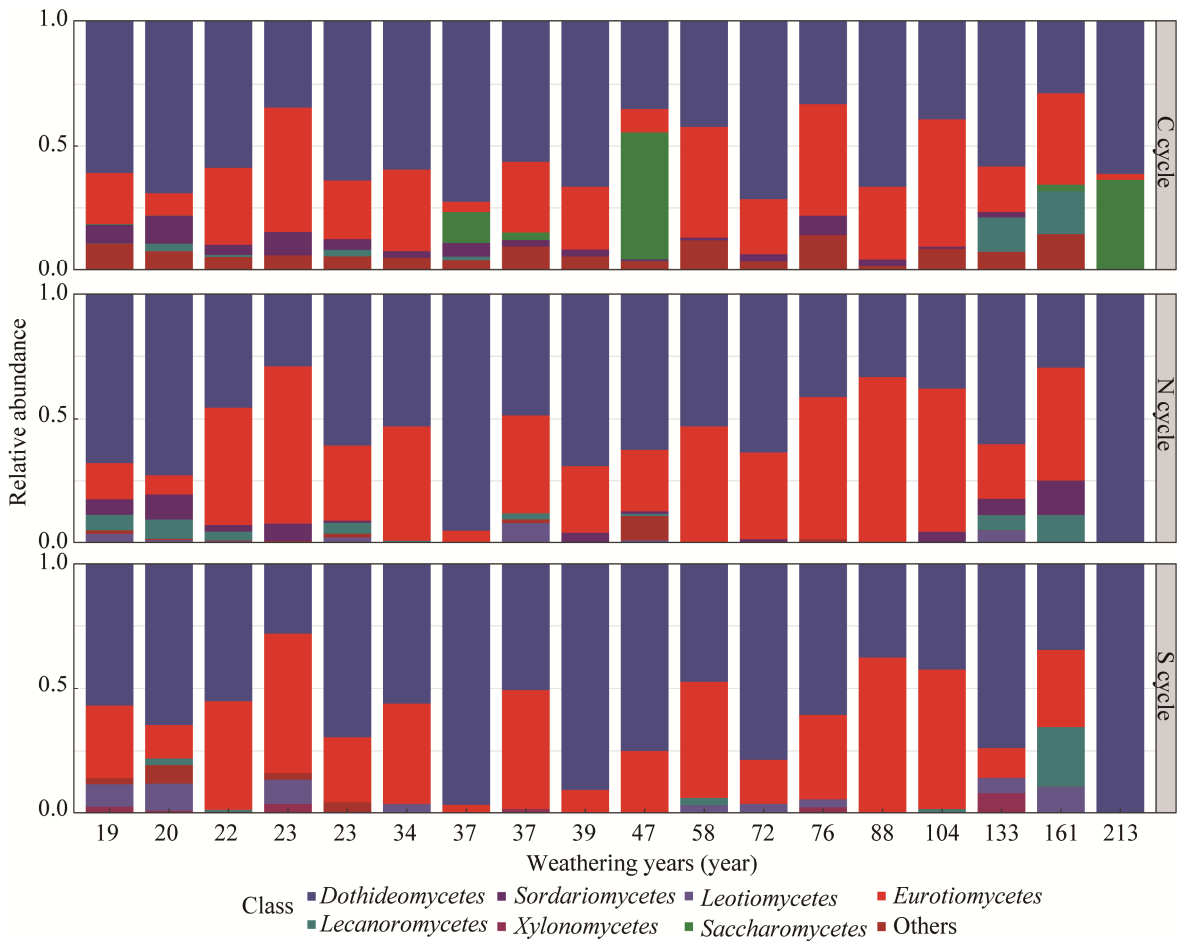


图 7 纲水平上与碳、氮、硫循环相关物种丰度变化

Figure 7 Changes in abundance of species related to carbon, nitrogen and sulfur cycles at the class level.

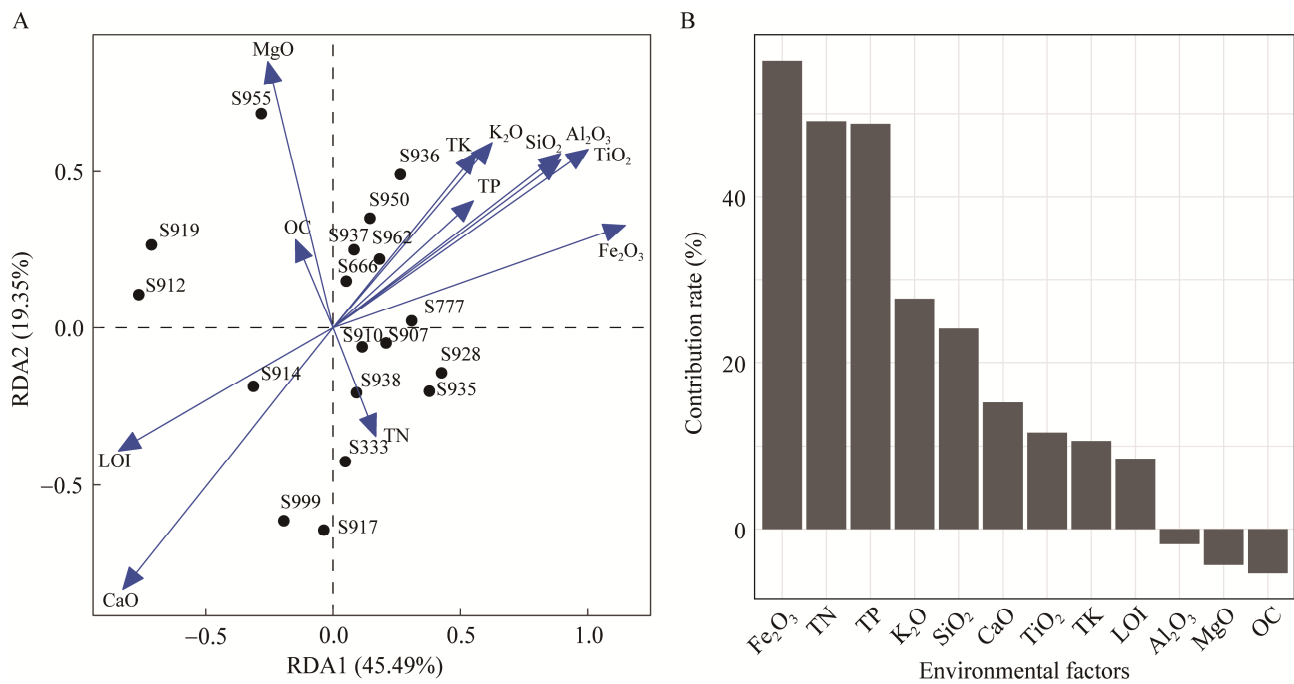


图 8 不同风化年限真菌群落与环境因子的冗余分析

Figure 8 Redundancy analysis of fungal communities and environmental factors in different weathering years. A: Redundancy analysis. B: Environmental factors and their contribution rates. OC: Organic carbon; MgO: Magnesium oxide; TK: Total potassium; K₂O: Potassium oxide; TP: Total phosphorus; SiO₂: Silicon dioxide; Al₂O₃: Aluminium oxide; TiO₂: Titanium dioxide; Fe₂O₃: Ferric oxide; TN: Total nitrogen; CaO: Calcium oxide; LOI: Loss on ignition.

3 讨论

3.1 碳酸岩风化过程中真菌群落组成变化

本研究基于宏基因组测序技术,探讨碳酸岩风化过程中风化壳真菌群落结构特征和功能特征。结果表明:在 18 个样品中,共检测出 1 087 种真菌,分属于 9 个门、538 属。子囊菌门为优势门,平均相对丰度达到 95%,是绝对的优势门类,表明子囊菌门是碳酸岩风化壳的主要真菌群落。这与 Tang 等^[20]在南江大峡谷的研究结果一致。在属水平上, *Neohortaea*、石果衣属和外瓶柄霉属三者的相对丰度最高,为优势属,该结果与前人研究存在一定差异。武发思等^[21]在嘉峪关魏晋墓腐蚀壁画的研究发现,曲霉属、*Phialosimplex* 和侧齿霉属为魏晋墓腐蚀砖壁

画上的优势属; Berner 等^[22]在赫伯斯坦城堡教堂和奥地利施蒂利亚圣乔治教区教堂中世纪壁画中真菌区系的比较研究中发现,顶孢菌属、长齿菌属、枝孢菌属、芽生菌属、被孢轮枝菌属、曲霉属和青霉属为优势属。研究结果的差异性也许与风化壳真菌的地域性有密切关系,不同区域的地理环境、气候类型、岩石特性,以及外在干扰因素存在差异。在本研究中还发现很多地衣化真菌,石果衣属为子囊菌门的一个真菌属,是地衣化真菌的主要类群之一,具有较强的抗旱性^[23]。地衣化是真菌的主要生活方式之一^[24],一些真菌物种是地衣化的,与藻类共生形成地衣,而另一些则是岩石上的普通定居者,共同加速岩石风化。

子囊菌门、担子菌门和毛霉菌门真菌随风化年限的增加呈现显著性变化,子囊菌门随风化年限的增加有显著下降的趋势;担子菌门和毛霉菌门相对丰度随风化年限的增加呈现显著上升的趋势。研究表明,子囊菌被认为是参与残留物分解早期阶段的 r-策略物种,而担子菌门是分解复杂和难降解的有机物(如木质纤维素)的 K-策略物种^[25]。Odum 研究表明,在演替早期,具有较快生长速度、体型较小和较高周转速率的 r-策略物种占优势,而在演替后期,当环境趋于稳定,具有较慢生长速度、体型较大和较高竞争能力的 K-策略物种占优势^[26]。r-策略物种优先消耗不稳定的有机碳库,是新生境的开拓者^[27]。在碳酸岩风化早期,风化壳环境恶劣,有机质含量少,新鲜岩石表面的初始定殖可能会导致能适应恶劣环境、参与残留物分解早期阶段的、具有较快生长速度的 r-策略物种丰富度快速增加;随着岩石风化的继续,新的资源和风化壳变得可用,植物残体、灰尘沉积物增多、难降解有机物残留增多、代谢物的积累,具有高竞争力的 K-策略物种相对丰度上升而 r-策略物种相对丰度下降;这可能是子囊菌门相对丰度显著下降,担子菌门相对丰度显著上升的原因^[28]。

3.2 碳酸岩风化过程中风化壳真菌功能特征

从所有样本中共筛选出 3 379 478 个 KEGG pathway level 3 功能通路相关基因。不同风化年限真菌各功能基因丰度基本相似,随风化年限的增加呈现的变化幅度较小。其中,与代谢相关基因含量占比最大(10.82%–12.75%),这表明真菌可能参与了氨基酸、碳水化合物等营养物质的合成代谢,为真菌及其他微生物的生长提供了必要的营养,同时真菌的代谢活动加速了岩石的风化。碳元素和氮元素是生物生长所需的重要元素,风化壳中碳、氮养分元素含量与可利用性能影响风化壳真菌丰度与活性,真菌

作为生态系统中的分解者能分解动植物残体与存在的有机物,在这个过程中,促进了碳、氮元素在地质大循环与生物小循环之间的转化^[29-30]。随风化年限的增加,与碳循环、氮循环和硫循环相关的物种相对丰度均呈现下降的趋势,它们的下降可能与风化壳养分元素的下降有关。座囊菌纲 (*Dothideomycetes*) 和散囊菌纲 (*Eurotiomycetes*) 是碳循环、氮循环和硫循环的主要微生物,均属于子囊菌门。子囊菌门多为腐生菌,可以分泌多种酶,以体外方式分解有机质及动植物残体,是生态系统中重要的分解者也是养分循环过程中的重要真菌^[31-32]。

3.3 碳酸岩风化过程中驱动真菌群落演替的关键影响因子

真菌群落结构在很大程度上受土壤理化性质的影响^[31]。RDA 结果表明,在碳酸岩风化过程中影响风化壳真菌群落结构变化的主要因素有三氧化二铁(Fe_2O_3)、全氮(TN)和全磷(TP)。铁是真菌生长的必需元素之一,对真菌的生长和发展具有重要作用,缺铁会导致真菌生长缓慢^[33]。它可以参与众多的生物代谢过程,如光合作用、呼吸作用、维持细胞酶活性和氮的固定等,缺乏铁离子会影响真菌的抗病性和生长发育^[34]。铁有还原性的亚铁离子(Fe^{2+})和氧化性的三价铁离子(Fe^{3+})两种离子形态。铁是地壳中第四丰富的元素,铁的氧化还原反应能影响岩石风化环境中的大量微生物种群^[35]。同时,岩石微生物介导的铁氧化还原作用能显著影响岩石风化^[36]。真菌的还原铁同化系统在具有高 Fe^{2+} 亲和性的同时还能把细胞外的 Fe^{3+} 在质膜上还原为 Fe^{2+} ^[37],在这个过程中,会伴随不同类型次生矿物形成^[36],从而影响岩石风化。大多数微生物需要氮和磷来维持生物生长和代谢,真菌需要氮养分来合成分解有机物的酶,从而影响真菌群落结构;磷是生物生长所需的核心元素之一,是生物遗传信息载体 DNA、生物膜

中不可缺少的大量元素,同时也是生产 ATP 的必需元素之一^[38-39]。有研究表明,驱动真菌群落演替的主要因素是有机碳含量^[40-41]。在光合作用过程中,植物吸收的约 5%–10%的碳通过根部排泄到土壤中,通过这一途径流失的化合物(包括有机酸、糖和氨基酸)代表了微生物的优质营养源,刺激了微生物的生长^[42]。Baldrian^[43]的研究也表明,在土壤中生长的真菌菌丝体中固定了光合作用提供的根际沉积碳。种种研究表明,在有机碳含量高的地区,真菌数量可能达到峰值。然而,在本研究中,在有机碳含量较高的样本中,真菌相对丰度有所升高,但对真菌群落结构并未达到显著影响,这与之前的研究结果出现分歧。可能与本研究的取样点缺少风化年限小于 10 年的样点以及采样点较少有关,在以后的研究中可通过采取更多风化年限的风化壳进行验证。

4 结论

在碳酸岩风化表面的微生态系统中,真菌群落具有丰富的多样性,并承担着丰富的功能。碳酸岩的风化强度随风化年限的增加而增加,这相应增加了岩石表面微生境的形成,提供了物质累积的条件,为微生物特别是真菌的定殖提供了条件。在碳酸岩风化过程中,子囊菌门始终是风化壳的优势真菌,并且在元素循环等过程中也承担着重要作用。不同风化年限碳酸岩风化壳真菌群落存在明显差异,碳酸岩表面真菌群落随风化年限的增加,其繁殖策略也在发生转变(从 r-策略到 K-策略)。本研究探讨了碳酸岩风化过程中风化壳真菌群落的结构特征与功能特征,将有助于我们更多地了解真菌等微生物在碳酸岩风化成土过程中的作用,然而真菌等微生物在碳酸岩风化成土过程中的具体作用机制还需要更多实验研究进行验证。

参考文献

- [1] 杨涛, 国辉, 周金星, 彭霞薇. 苔藓结皮对碳酸盐岩的风化作用研究进展[J/OL]. 中国岩溶, 2021, 40: 1-10, DOI: 10.11932/karst2021y36.
YANG T, GUO H, ZHOU JX, PENG XW. Research progress on the effect of moss crust on the weathering of carbonate rocks[J/OL]. *Carsologica Sinica*, 2021, 40: 1-10, DOI: 10.11932/karst2021y36 (in Chinese).
- [2] VILES HA. Biokarst[J]. *Progress in Physical Geography: Earth and Environment*, 1984, 8(4): 523-542.
- [3] 贾丽萍. 不同类群典型微生物的溶蚀作用实验研究[D]. 武汉: 华中科技大学硕士学位论文, 2006.
JIA LP. Experimental study on roles of different kinds of typical microbes in the corrosion of limestone[D]. Wuhan: Master's Thesis of Huazhong University of Science and Technology, 2006 (in Chinese).
- [4] de la TORRE MA, GOMEZ-ALARCON G, VIZCAINO C, GARCIA MT. Biochemical mechanisms of stone alteration carried out by filamentous fungi living in monuments[J]. *Biogeochemistry*, 1992, 19(3): 129-147.
- [5] STERFLINGER K, PIÑAR G. Microbial deterioration of cultural heritage and works of art—tilting at windmills?[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(22): 9637-9646.
- [6] PIÑAR G, GARCIA-VALLES M, GIMENO-TORRENTE D, FERNANDEZ-TURIEL JL, ETTENAUER J, STERFLINGER K. Microscopic, chemical, and molecular-biological investigation of the decayed medieval stained window glasses of two Catalan churches[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, 84: 388-400.
- [7] DUAN YL, WU FS, HE DP, GU JD, FENG HY, CHEN T, LIU GX, WANG WF. Bacterial and fungal communities in the sandstone biofilms of two famous Buddhist grottoes in China[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2021, 163: 105267.
- [8] 李涵, 蔡林, 姚奇志, 周根陶. 真菌的生物地质作用及其在环境修复中的应用[J]. 高校地质学报, 2015, 21(3): 382-394.
LI H, CAI L, YAO QZ, ZHOU GT. Fungal involvement in biogeological processes and application to environmental bioremediation[J]. *Geological Journal of China Universities*, 2015, 21(3): 382-394 (in Chinese).
- [9] ZUMSTEG A, LUSTER J, GÖRANSSON H,

- SMITTENBERG RH, BRUNNER I, BERNASCONI SM, ZEYER J, FREY B. Bacterial, archaeal and fungal succession in the forefield of a receding glacier[J]. *Microbial Ecology*, 2012, 63(3): 552-564.
- [10] 连宾, 陈焯, 朱立军, 杨瑞东. 微生物对碳酸盐岩的风化作用[J]. *地学前缘*, 2008, 15(6): 90-99.
LIAN B, CHEN Y, ZHU LJ, YANG RD. Progress in the study of the weathering of carbonate rock by microbes[J]. *Earth Science Frontiers*, 2008, 15(6): 90-99 (in Chinese).
- [11] 李景阳, 朱立军, 王朝富, 樊延章, 陈筠. 碳酸盐岩风化壳及喀斯特成土作用研究[J]. *贵州地质*, 1996, 13(2): 139-145.
LI JY, ZHU LJ, WANG CF, FAN YZ, CHEN Y. Weathering crust of carbonate rocks and process of karst soil formation[J]. *Guizhou Geology*, 1996, 13(2): 139-145 (in Chinese).
- [12] 连宾. 碳酸盐岩风化成土过程中的微生物作用[J]. *矿物岩石地球化学通报*, 2010, 29(1): 52-56.
LIAN B. Microbial roles in the genesis of soil from carbonate rock weathering[J]. *Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry*, 2010, 29(1): 52-56 (in Chinese).
- [13] GORBUSHINA AA, BROUGHTON WJ. Microbiology of the atmosphere-rock interface: how biological interactions and physical stresses modulate a sophisticated microbial ecosystem[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2009, 63: 431-450.
- [14] ZHANG Y, WU FS, SU M, HE DP, GU JD, GUO QL, KAKAKHEL MA, YANG Y, WANG WF, FENG HY. Spatial and temporal distributions of microbial diversity under natural conditions on the sandstone stelae of the Beishiku Temple in China[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2021, 163: 105279.
- [15] 张永, 武发思, 苏敏, 贺东鹏, 马文霞, 汪万福, 冯虎元. 石质文物的生物风化及其防治研究进展[J]. *应用生态学报*, 2019, 30(11): 3980-3990.
ZHANG Y, WU FS, SU M, HE DP, MA WX, WANG WF, FENG HY. Research progress on the bioweathering and controlling of stone cultural relics[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(11): 3980-3990 (in Chinese).
- [16] 马文霞, 武发思, 田恬, 马燕天, 向婷, 刘贤德, 汪万福, 冯虎元. 墓室酥碱砖壁画及其环境的真菌多样性分析[J]. *微生物学通报*, 2018, 45(10): 2091-2104.
MA WX, WU FS, TIAN T, MA YT, XIANG T, LIU XD, WANG WF, FENG HY. Fungal diversity of brick murals with salt efflorescence and their surroundings in different ancient tombs[J]. *Microbiology China*, 2018, 45(10): 2091-2104 (in Chinese).
- [17] VILES H. Ecological perspectives on rock surface weathering: towards a conceptual model[J]. *Geomorphology*, 1995, 13(1/2/3/4): 21-35.
- [18] 中华人民共和国国家标准. 森林土壤烧失量的测定: GB 7876—1987[S]. 北京: 国家标准局, 1988.
- [19] 黄镇国, 张伟强, 刘瑞华. 中国南方红色风化壳[M]. 北京: 海洋出版社, 1996.
HUANG ZG, ZHANG WQ, LIU RH. *South China Red Weathering Shell*[M]. Beijing: Ocean Press, 1996 (in Chinese).
- [20] TANG Y, LIAN B. Diversity of endolithic fungal communities in dolomite and limestone rocks from Nanjiang Canyon in Guizhou karst area, China[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2012, 58(6): 685-693.
- [21] 武发思, 汪万福, 贺东鹏, 陈港泉, 马燕天, 张国彬, 张晓东, 冯虎元. 嘉峪关魏晋墓腐蚀壁画真菌群落组成分析[J]. *敦煌研究*, 2013(1): 60-66.
WU FS, WANG WF, HE DP, CHEN GQ, MA YT, ZHANG GB, ZHANG XD, FENG HY. The fungal community composition on mural paintings in tomb of Wei and Jin dynasty, Jiayuguan[J]. *Dunhuang Research*, 2013(1): 60-66 (in Chinese).
- [22] BERNER M, WANNER G, LUBITZ W. A comparative study of the fungal flora present in medieval wall paintings in the chapel of the castle Herberstein and in the parish church of St Georgen in Styria, Austria[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 1997, 40(1): 53-61.
- [23] 王延延, 张新宇, 周启明, 张晓灵, 魏江春. 石果衣真菌(*Endocarpon pusillum*)比较转录组分析揭示其抗旱特性[J]. *中国科学: 生命科学*, 2015, 45(1): 43-55.
WANG YY, ZHANG XY, ZHOU QM, ZHANG XL, WEI JC. Comparative transcriptome analysis of *Endocarpon pusillum* reveals its drought resistance[J]. *Scientia Sinica Vitae*, 2015, 45(1): 43-55 (in Chinese).
- [24] LÜCKING R, HODKINSON BP, LEAVITT SD. The 2016 classification of lichenized fungi in the *Ascomycota* and *Basidiomycota*—approaching one thousand genera[J]. *The Bryologist*, 2016, 119(4): 361-416.
- [25] BASTIAN F, BOUZIRI L, NICOLARDOT B, RANJARD L. Impact of wheat straw decomposition on successional patterns of soil microbial community structure[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 41(2): 262-275.
- [26] ODUM EP. The strategy of ecosystem development[J]. *Science*, 1969, 164(3877): 262-270.

- [27] FIERER N, BRADFORD MA, JACKSON RB. Toward an ecological classification of soil bacteria[J]. *Ecology*, 2007, 88(6): 1354-1364.
- [28] JACKSON CR. Changes in community properties during microbial succession[J]. *Oikos*, 2003, 101(2): 444-448.
- [29] 吴汉卿, 阮楚晋, 万炜, 李胜龙, 裴丁仪, 韩苗, 陈国炜, 刘莹. 基于知识图谱分析的土壤氮循环功能基因研究进展[J/OL]. *土壤学报*, 2022, 75: 1-16, DOI: 10.11766/trxb202110270580.
WU HQ, RUAN CJ, WAN W, LI SL, PEI DY, HAN M, CHEN GW, LIU Y. Progress of functional genes related to soil nitrogen cycling based on knowledge mapping[J/OL]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 75: 1-16, DOI: 10.11766/trxb202110270580 (in Chinese).
- [30] 刘洋荧, 王尚, 厉舒祯, 邓晔. 基于功能基因的微生物碳循环分子生态学研究进展[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(7): 1676-1689.
LIU YY, WANG S, LI SZ, DENG Y. Advances in molecular ecology on microbial functional genes of carbon cycle[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(7): 1676-1689 (in Chinese).
- [31] 刘立玲, 周光益, 党鹏, 陈洁, 尚海, 邱丽琼, 朱宁华. 湘西石漠化区 3 种造林模式土壤真菌群落结构差异[J]. *生态学报*, 2022, 42(10): 4150-4159.
LIU LL, ZHOU GY, DANG P, CHEN J, SHANG H, QIU LQ, ZHU NH. Differences of soil fungal community structure under three afforestation modes in rocky desertification region of western Hunan Province[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(10): 4150-4159 (in Chinese).
- [32] 付浩, 曾歆花, 宋志琳, 兰思仁, 黄卫昌. 三种城市景观竹土壤微生物群落结构特征[J/OL]. *土壤*, 2022, 65: 1-11. (2022-04-27). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1118.P.20220426.1814.002.html>.
FU H, ZENG XH, SONG ZL, LAN SR, HUANG WC. Soil microbial community structures under three urban landscape bamboo forests[J/OL]. *Soils*, 2022, 65: 1-11. (2022-04-27). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1118.P.20220426.1814.002.html> (in Chinese).
- [33] JOHNSON L. Iron and siderophores in fungal-host interactions[J]. *Mycological Research*, 2008, 112(Pt2): 170-183.
- [34] 孙红启. 铁载体和铁离子对细菌生长过程的影响[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2008.
SUN HQ. Effects of siderophore and ferric ion on bacterial growth process[D]. Jinan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2008 (in Chinese).
- [35] WEBER KA, ACHENBACH LA, COATES JD. Microorganisms pumping iron: anaerobic microbial iron oxidation and reduction[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(10): 752-764.
- [36] 朱永官, 段桂兰, 陈保冬, 彭新华, 陈正, 孙国新. 土壤-微生物-植物系统中矿物风化与元素循环[J]. *中国科学: 地球科学*, 2014, 44(6): 1107-1116.
ZHU YG, DUAN GL, CHEN BD, PENG XH, CHEN Z, SUN GX. Mineral weathering and element cycle in soil-microbial-plant system[J]. *Scientia Sinica: Terrae*, 2014, 44(6): 1107-1116 (in Chinese).
- [37] 邱添, 刘世名. 植物病原真菌铁离子信号功能机制研究进展[J/OL]. *分子植物育种*, 2021, 19: 1-15. (2021-08-03). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210803.0922.004.html>.
QIU T, LIU SM. Research progress on the function and mechanism of iron ions signaling in plant pathogenic fungi[J/OL]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19: 1-15. (2021-08-03). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210803.0922.004.html> (in Chinese).
- [38] 李善家, 王福祥, 从文倩, 魏明, 王军强, 崔莉娟, 王子濠. 河西走廊荒漠土壤微生物群落结构及环境响应[J/OL]. *土壤学报*, 2022, 75: 1-12, DOI: 10.11766/trxb202110120235.
LI SJ, WANG FX, CONG WQ, WEI M, WANG JQ, CUI LJ, WANG ZH. Microbial community structure and environmental response of desert soil in Hexi Corridor[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 75: 1-12, DOI: 10.11766/trxb202110120235 (in Chinese).
- [39] 施秀珍, 王建青, 黄志群, 贺纪正. 树种多样性对土壤微生物群落结构和元素生物地球化学循环的影响研究进展[J]. *生态学报*, 2022, 42(15): 6092-6102.
SHI XZ, WANG JQ, HUANG ZQ, HE JZ. Research progresses in the effects of tree species diversity on soil microbial communities and biogeochemical cycling of elements[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(15): 6092-6102 (in Chinese).
- [40] GUILLITTE O. Bioreceptivity: a new concept for building ecology studies[J]. *Science of the Total Environment*, 1995, 167(1/2/3): 215-220.
- [41] BARDGETT RD, BOWMAN WD, KAUFMANN R, SCHMIDT SK. A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2005, 20(11): 634-641.
- [42] FARRAR J, HAWES M, JONES D, LINDOW S. How roots control the flux of carbon to the rhizosphere[J]. *Ecology*, 2003, 84(4): 827-837.
- [43] BALDRIAN P. Forest microbiome: diversity, complexity and dynamics[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2017, 41(2): 109-130.