

丛枝菌根真菌群落与植物系统发育的相关性分析

杨海水^{*} 王 琪 郭 伊 熊艳琴 许明敏 戴亚军

南京农业大学农学院, 南京 210095

摘 要 为弄清丛枝菌根(arbuscular mycorrhiza, AM)真菌群落随宿主植物演化的变异规律, 通过对MaarjAM数据库进行数据挖掘, 根据每个分子虚拟种(virtual taxa, VT)包含的DNA序列不少于5条的标准, 筛选出188种菌根植物。通过分析植物与其根内AM真菌的关系发现: AM真菌的物种丰富度随着寄主植物的分化而增加; 在不同的植物系统类群中, AM真菌的物种丰富度显著不同; 在起源时间较晚的被子植物和裸子植物中, AM真菌的物种丰富度显著高于起源较早的苔类、角苔类和蕨类植物类群, 而与寄生植物共生的AM真菌物种丰富度与早期植物无显著差异; 不同寄主植物进化类群间AM真菌组成差异显著。以上结果表明: AM真菌群落随着寄主植物进化而发生变化。在进化过程中, 寄主植物倾向于选择保留共生效率较高的AM真菌。

关键词 丛枝菌根真菌, 寄主特异性, 多样性, 进化

引用格式: 杨海水, 王琪, 郭伊, 熊艳琴, 许明敏, 戴亚军 (2015). 丛枝菌根真菌群落与植物系统发育的相关性分析. 植物生态学报, 39, 383–387. doi: 10.17521/cjpe.2015.0037

Correlation analysis between arbuscular mycorrhizal fungal community and host plant phylogeny

YANG Hai-Shui^{*}, WANG Qi, GUO Yi, XIONG Yan-Qin, XU Ming-Min, and DAI Ya-Jun

College of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract

Aims The objective of this study was to understand how arbuscular mycorrhizal (AM) fungal community would vary with plant evolution.

Methods Data-mining was carried out against MaarjAM database with ribosomal small subunit (SSU) gene. We predicted that the richness of root-associated AM fungal species increases from lower to higher modern land plants. Totally, 188 host plant species were selected in this analysis.

Important findings The AM fungal species richness increased with the divergence of host plant species, and significantly differed among plant phylogenetic groups. The more recently diverged host plants (i.e. gymnosperms and angiosperms) harbored higher AM fungal species richness, whereas the earlier-originated plants (liverworts, hornworts and ferns) possessed lower AM fungal species richness. The myco-heterotrophs in angiosperms showed similarly low richness of AM fungal species to the lower plants. In addition, the AM fungal community composition significantly differed among different plant phylogenetic groups. Findings in this study provided some indirect evidence that AM fungal communities varied with plant evolution. It is suggested that plants might maintain the most effective AM fungi but discard those inefficient ones during evolution.

Key words arbuscular mycorrhizal fungi, host-specificity, diversity, evolution

Citation: Yang HS, Wang Q, Guo Y, Xiong YQ, Xu MM, Dai YJ (2015). Correlation analysis between arbuscular mycorrhizal fungal community and host plant phylogeny. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 39, 383–387. doi: 10.17521/cjpe.2015.0037

植物与土壤微生物互作对生态系统功能具有重要的调控作用(Wu *et al.*, 2011)。丛枝菌根(arbuscular mycorrhiza, AM)真菌是一类与陆生植物根系共生的土壤功能微生物类群(Smith & Read, 2008)。AM真菌

在陆地生态系统广泛分布, 并且具有重要的生态功能。在植物-AM真菌共生体中, 植物为AM真菌提供光合作用产生的碳源, 而AM真菌为寄主植物提供诸多益处, 包括促进养分吸收、增加寄主植物对非

生物胁迫的耐性和对生物胁迫的抗性(Borowicz, 2001; Smith & Read, 2008)。通过菌丝桥, AM真菌能够调节植物间的相互作用(Wagg *et al.*, 2011), 进而调控植物的种群动态和群落过程(van der Heijden *et al.*, 1998; Koide & Dickie, 2002)。

研究发现, AM真菌是最为古老的一种微生物菌群。AM真菌可能起源于奥陶纪(至今约4.6亿年), 在泥盆纪(至今约4.0亿年)之前, 已与早期植物根系形成共生体(Remy *et al.*, 1994; Redecker *et al.*, 2000)。在早期植物登陆过程中, AM真菌帮助其适应恶劣环境, 如在水肥供应不足时(Pirozynski & Malloch, 1975; Wang *et al.*, 2010)。在植物成功登陆之后, AM真菌在驱动植物进化方面可能起着更为重要的作用。近年来, 这一研究领域取得了较为丰富的成果。例如, Read等(2000)通过扫描电镜检测发现, 苔类植物类群中起源最早的分支能够形成典型的菌根结构, 因此, AM真菌被认为是苔类植物根内的“古老遗产”(Kottke & Nebel, 2005)。在维管植物和苔类植物中, AM真菌的侵染策略和结构保守(Read *et al.*, 2000; Ligrone *et al.*, 2007)。Fonseca和Berbara (2008)发现AM真菌能将磷转移给苔类植物。Wang等(2010)发现菌根共生基因在不同的植物系统类群里功能保守。通过模拟中生代中后期大气CO₂浓度变化的研究发现, 在高CO₂浓度条件下, AM真菌能够促进起源较早的苔类植物的生长与繁殖; 但在CO₂浓度降低时, 苔类植物的菌根响应降低, 而维管植物的菌根响应增加(Humphreys *et al.*, 2010; Field *et al.*, 2012)。以上研究表明, AM真菌可能是驱动植物进化的关键组分。

然而, 目前我们并不清楚AM真菌群落如何随着寄主植物的进化而变化。根内AM真菌的物种丰富度不仅反映了AM真菌与寄主植物的兼容性, 而且反映了根内有具有活性的AM真菌。由于AM真菌具有较高功能多样性(van der Heijden *et al.*, 2004), AM真菌与寄主植物的兼容性高低可能反映了寄主植物的一些功能需求。低兼容性表明寄主植物可能仅仅选择了很少的几种AM真菌与之共生来满足其特定的功能需求; 而高兼容性可能反映了寄主植物选择了更多的AM真菌与之共生以期提供更多的功能。根内AM真菌的寄主特异性反映了寄主植物对AM真菌的选择性变异。本文通过对MaarjAM数据库进行数据挖掘, 总结分析了不同植物类群的AM

真菌物种丰富度和群落组成, 以期揭示AM真菌群落与寄主植物进化的关系。

1 材料和方法

1.1 数据搜集、处理与分析

我们从MaarjAM数据库(Öpik *et al.*, 2010)提取了SSU序列数据和对应的寄主信息。AM真菌物种丰富度定义为: 每种植物根内出现的AM真菌的分子虚拟种(virtual taxa, VT)的个数。VT最初由Öpik等(2010)通过系统发育与97%序列相似性进行定义。为了保证取样充足, 我们对原始文献进行了筛查, 筛选条件如下: (1)仅仅包含使用AM真菌通用PCR引物扩增整个群落的数据; (2)每个VT在数据库所包含的DNA序列必须大于5条。本项研究仅选择VT数据来分析AM真菌物种丰富度及群落组成随植物系统发育进程的变化趋势。

1.2 植物系统发育关系的构建及进化分析

我们使用广泛应用于植物系统发育研究的*rbcL*标记基因对寄主植物的进化分歧时间和遗传距离进行估计。首先, 我们检索GenBank数据库, 提取目标植物对应的*rbcL*基因序列。如果GenBank数据库里没有目标植物的*rbcL*基因序列, 我们就以目标植物同属或同科植物的*rbcL*基因序列进行替代。

从苔类植物到被子植物, 本研究总共搜集了188种来自于自然植被的寄主植物用于分析。我们使用最大似然法对这188种植物的*rbcL*基因序列进行系统发育关系构建。系统发育分析使用RAxML 7.0软件(Stamatakis, 2006)和GTRCAT_GAMMA模型进行。我们使用罚分似然法对已构建的系统发育树进行分歧时间估计。罚分似然法是一种松弛的分子钟分析, 使用r8s软件(Sanderson, 2003)对此进行分析。分子钟的矫正时间点(Fiz-Palacios *et al.*, 2011)如下: (1)系统发育树的根节点最大分歧时间为725百万年; (2)蕨类植物的最小分歧时间为408百万年, Marchantiopsida的最小分歧时间为225百万年; (3)裸子植物的最大分歧时间为385百万年; (4)禾本目最小分歧时间为68.1百万年, 豆科最小分歧时间为59.9百万年, 无患子目最小分歧时间为65.5百万年, 菊目最小分歧时间为28.75百万年; (5)被子植物分歧时间为132百万年, 双子叶分歧时间为121百万年。该分析使用Truncated-Newton程序进行优化。最优速率修匀(rate-smoothing)参数设置为10, 这一参数

值是由交叉校正(cross-validation)方法计算获得。

1.3 统计分析

为了揭示AM真菌物种丰富度和寄主特异性与寄主植物系统发育之间的关系, 我们使用线性回归方法分析寄主植物分歧时间与AM真菌群落特性之间的关系。AM真菌物种丰富度数据进行Log10转化。使用单因素方差分析检验不同寄主进化类群根内AM真菌物种丰富度是否具有显著差异。单因素方差分析及线性回归分析使用SPSS 16.0 (SPSS, USA)。用无度量多维尺度分析(NMDS)和单因素非参数MANOVA (one-way NPMANOVA)比较不同系统进化类群AM真菌群落组成的差异, 用PAST v1.91软件(Hammer *et al.*, 2001)进行分析。

2 结果

根内AM真菌物种丰富度随着寄主植物的进化轨迹而增加(图1)。AM真菌物种丰富度与分歧时间显著正相关($p < 0.01$)。在较低等的植物中, 如苔类植物和蕨类植物中, 平均每种植物与2种AM真菌共生。而在高等植物中, 平均每种植物与多种AM真菌共生, 例如, 平均每种植物根内有6种AM真菌, 单子叶植物根内有10种AM真菌, 而双子叶植物根内有8种AM真菌(图2)。然而, 被子植物中的菌根异养植物却是例外: 其根内共生的AM真菌物种数较低, 不到2种。

NMDS分析显示, 不同寄主植物进化类群的根内AM真菌群落组成明显不同(图3)。One-way NPM-

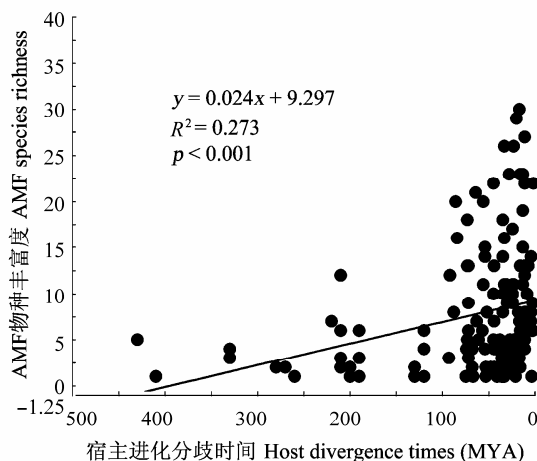


图1 寄主进化分歧时间(MYA, 百万年)与根内丛枝菌根真菌(AMF)物种丰富度之间的关系。

Fig. 1 Relationship between the time of divergence of hosts (MYA, million year) and the richness of arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) species in roots.

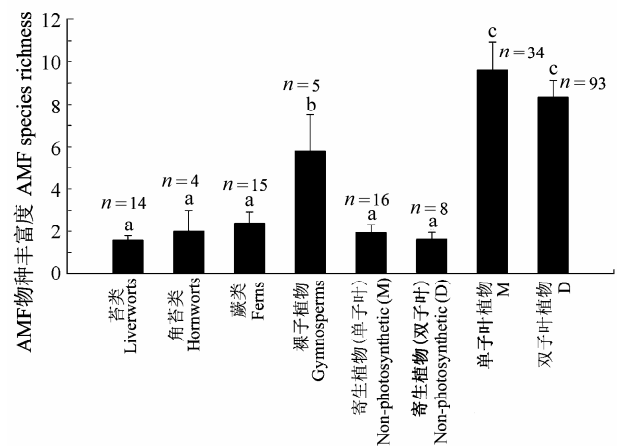


图2 丛枝菌根真菌(AMF)物种丰富度在不同植物系统类群之间的分布(平均值±标准误差)。不同小写字母表示不同植物系统类群间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 2 Distribution of species richness of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in different plant phylogenetic groups (mean \pm SE). Different lowercase letters indicate significant differences among different plant phylogenetic groups ($p < 0.05$). D, dicotyledons; M, monocotyledons.

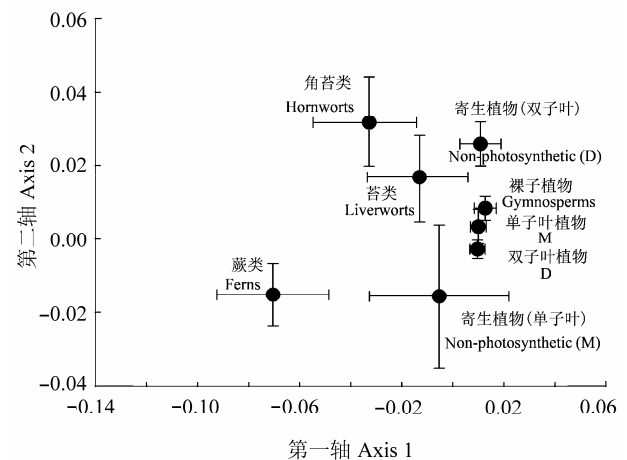


图3 不同植物进化类群根内丛枝菌根真菌群落组成的无度量多维尺度(NMDS)分析。

Fig. 3 Non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis of arbuscular mycorrhizal fungal community composition in different phylogenetic groups. D, dicotyledons; M, monocotyledons.

ANOVA进一步表明, 在不同植物进化类群里AM真菌群落组成具有显著差异($F = 3.06$, $p < 0.01$)(表1)。但是, 裸子植物的根内AM真菌群落组成具有特殊性: 除了角苔类植物与单子叶寄生植物, 裸子植物与其他寄主植物类群的差异均不显著(表1)。

表1 不同植物进化类群根内丛枝菌根真菌群落组成的单因素非参数MANOVA分析

Table 1 One-way NPMANOVA of arbuscular mycorrhizal fungal community composition in different phylogenetic groups of host plants

	L	H	F	G	NPM	M	NPD	D
L	–	0.02	<0.01	0.46	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
H		–	0.02	0.02	0.01	<0.01	<0.01	<0.01
F			–	0.07	0.01	<0.01	<0.01	<0.01
G				–	0.21	0.58	<0.01	0.68
NPM					–	<0.01	<0.01	<0.01
M						–	<0.01	0.94
NPD							–	<0.01
D								–

D, 双子叶植物; F, 蕨类; G, 裸子植物; H, 角苔类; L, 苔类; M, 单子叶植物; NPD, 寄生植物(双子叶); NPM, 寄生植物(单子叶)。
D, Dicotyledons; F, Ferns; G, Gymnosperm; H, Hornworts; L, Liverworts; M, Monocotyledons; NPD, Non-photosynthetic (D); NPM, Non-photosynthetic (M).

3 讨论

AM真菌是植物进化过程中不可缺少的部分, 例如, 植物从水体向陆地的拓殖, 孢子植物向被子植物的进化以及菌根异养植物的分化等(Bidartondo *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2010; Field *et al.*, 2012)。本研究发现, 从早期起源植物到晚期起源植物, AM真菌物种丰富度依次增加。除裸子植物之外, 不同寄主植物进化类群中, AM真菌群落组成显著不同。

对于早期起源的植物来说, 例如, 苔类、角苔类和蕨类, 其现在生活的环境与当初起源时的环境大相径庭。例如, 在古生代的中期, 距今大约4.6亿年, 大气CO₂浓度远远高于现在(Field *et al.*, 2012)。而在古生代后期, 大气CO₂浓度几乎降低了90% (Field *et al.*, 2012)。Field等(2012)通过模拟CO₂浓度改变来研究气候变化如何影响早期起源植物对AM真菌的响应。研究表明, 大气CO₂浓度降低抑制了苔类植物对AM真菌生长的响应, 但促进了蕨类植物的菌根生长响应。在当代环境条件下, 苔类植物具有较小的生物量, 理论上, 它们提供给与之共生的AM真菌的碳源有限。因此, 在进化过程中, 苔类植物可能会选择最高效的AM真菌与之共生, 而舍弃共生效率较低的AM真菌(Ligrone *et al.*, 2007)。对蕨类植物来说, 一般都要经过不能进行光合作用的地下菌根异养生长时期。在这段生长过程中, 蕨类植物所需要的碳源及养分完全依赖于AM真菌从其他绿色植物转移而来的碳源及养分(Winther & Friedman, 2007)。因此, 在这一生长期, 蕨类植物可能仅仅与

少数共生效率较高的AM真菌形成共生关系。然而, Winther和Friedman (2007)发现, 蕨类植物从异养时期进入自养时期后, 其根内AM真菌群落仍保持不变。其潜在机制目前并不清楚。这也可能是蕨类植物根内AM真菌物种丰富度较低的原因。裸子植物具有较强的光合能力, 能够为其菌根共生体提供充足的碳源, 因此, 裸子植物能够负担比苔类和蕨类更多的AM真菌。然而, 裸子植物根内AM真菌物种丰富度低于被子植物。这可能是由于裸子植物同时与AM真菌和外生菌根(ectomycorrhiza, EM)真菌共生, 而大多数被子植物仅仅与AM真菌形成菌根共生体。被子植物可能与更多的AM真菌形成共生体以满足多样化的功能需求。寄生植物(不能进行光合作用)具有较低的AM真菌物种丰富度, 这可能是由其菌根异养特性决定的, 必须与最高效的AM真菌共生才能完成其生命周期。

AM真菌群落在不同寄主植物进化类群中的组成差异可能是由双方共生功能相互选择造成的。Kiers等(2011)报道了菌根共生双方的“相互奖励”机制: 寄主植物将碳源分配给能提供更多磷素的AM真菌。由于AM真菌具有较高的功能多样性, 不同寄主植物进化类群的功能需求不同, 在进化过程中, 寄主植物可能会保留一些具有特定功能的AM真菌与之共生。例如, 苔藓类、蕨类和寄生植物都要经过一段菌根异养时期。期间, 这些植物所需要的碳源与养分完全依赖于与之共生的AM真菌。研究发现, 这些植物对*Glomus* group A类真菌几乎具有专一性(Russell & Bulman, 2005; Franke *et al.*, 2006; Kovács *et al.*, 2007)。然而, 裸子植物和被子植物不但需要AM真菌提供养分, 还需要AM真菌帮助它们抵御胁迫环境, 如高温、干旱和病原菌等。因此, 基于更多的功能需求, 裸子植物和被子植物可能会与更多的AM真菌共生。

基金项目 国家自然科学基金(31400373)、江苏省自然科学基金(BK20140689)和中国博士后科学基金(2014M561659)。

参考文献

Bidartondo MI, Redecker D, Hijri I, Wiemken A, Bruns TD, Domínguez L, Sersic A, Leake JR, Read DJ (2002). Epiparasitic plants specialized on arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 419, 389–392.
Borowicz VA (2001). Do arbuscular mycorrhizal fungi alter

- plant-pathogen relations? *Ecology*, 82, 3057–3068.
- Field KJ, Cameron DD, Leake JR, Tille S, Bidartondo MI, Beerling DJ (2012). Contrasting arbuscular mycorrhizal responses of vascular and non-vascular plants to a simulated palaeozoic CO₂ decline. *Nature Communications*, 3, 1–8.
- Fiz-Palacios O, Schneider H, Heinrichs J, Savolainen V (2011). Diversification of land plants: Insights from a family-level phylogenetic analysis. *BMC Evolutionary Biology*, 11, 341.
- Fonseca HMA, Berbara RLL (2008). Does *Lunularia cruciata* form symbiotic relationships with either *Glomus proliferum* or *G. intraradices*? *Mycological Research*, 112, 1063–1068.
- Franke T, Beenken L, Döring M, Kocyan A, Agerer R (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi of the *Glomus*-group A lineage (Glomerales; Glomeromycota) detected in myco-heterotrophic plants from tropical Africa. *Mycological Progress*, 5, 24–31.
- Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4, 1–9.
- Humphreys CP, Franks PJ, Rees M, Bidartondo MI, Leake JR, Beerling DJ (2010). Mutualistic mycorrhiza-like symbiosis in the most ancient group of land plants. *Nature Communications*, 1, 103.
- Kiers ET, Duhamel M, Beesetty Y, Mensah JA, Franken O, Verbruggen E, Fellbaum CR, Kowalchuk GA, Hart MM, Bago A (2011). Reciprocal rewards stabilize cooperation in the mycorrhizal symbiosis. *Science*, 333, 880–882.
- Koide R, Dickie I (2002). Effects of mycorrhizal fungi on plant populations. *Plant and Soil*, 244, 307–317.
- Kottke I, Nebel M (2005). The evolution of mycorrhiza-like associations in liverworts: An update. *New Phytologist*, 167, 330–334.
- Kovács GM, Balázs T, Péntes Z (2007). Molecular study of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing the sporophyte of the eusporangiate rattlesnake fern (*Botrychium virginianum*, Ophioglossaceae). *Mycorrhiza*, 17, 597–605.
- Ligrone R, Carafa A, Lumini E, Bianciotto V, Bonfante P, Duckett JG (2007). Glomeromycotean associations in liverworts: A molecular, cellular, and taxonomic analysis. *American Journal of Botany*, 94, 1756–1777.
- Öpik M, Vanatoa A, Vanatoa E, Moora M, Davison J, Kalwij JM, Reier Ü, Zobel M (2010). The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *New Phytologist*, 188, 223–241.
- Pirozynski KA, Malloch DW (1975). The origin of land plants: A matter of mycotrophism. *Biosystems*, 6, 153–164.
- Read D, Duckett J, Francis R, Ligrone R, Russell A (2000). Symbiotic fungal associations in “lower” land plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, 355, 815–831.
- Redecker D, Kodner R, Graham LE (2000). Glomalean fungi from the Ordovician. *Science*, 289, 1920–1921.
- Remy W, Taylor TN, Hass H, Kerp H (1994). Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91, 11841–11843.
- Russell J, Bulman S (2005). The liverwort *Marchantia foliacea* forms a specialized symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi in the genus *Glomus*. *New Phytologist*, 165, 567–579.
- Sanderson MJ (2003). r8s: Inferring absolute rates of molecular evolution and divergence times in the absence of a molecular clock. *Bioinformatics*, 19, 301–302.
- Smith SE, Read DJ (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd edn. Academic Press, San Diego, USA.
- Stamatakis A (2006). RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22, 2688–2690.
- van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A, Sanders IR (1998). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396, 69–72.
- van der Heijden MGA, Scheublin TR, Brader A (2004). Taxonomic and functional diversity in arbuscular mycorrhizal fungi—Is there any relationship? *New Phytologist*, 164, 201–204.
- Wagg C, Jansa J, Stadler M, Schmid B, van der Heijden MGA (2011). Mycorrhizal fungal identity and diversity relaxes plant-plant competition. *Ecology*, 92, 1303–1313.
- Wang B, Yeun LH, Xue JY, Liu Y, Ané JM, Qiu YL (2010). Presence of three mycorrhizal genes in the common ancestor of land plants suggests a key role of mycorrhizas in the colonization of land by plants. *New Phytologist*, 186, 514–525.
- Winther JL, Friedman WE (2007). Arbuscular mycorrhizal symbionts in *Botrychium* (Ophioglossaceae). *American Journal of Botany*, 94, 1248–1255.
- Wu JP, Liu ZF, Wang XL, Sun YX, Zhou LX, Lin YB, Fu SL (2011). Effects of understory removal and tree girdling on soil microbial community composition and litter decomposition in two *Eucalyptus* plantations in South China. *Functional Ecology*, 25, 921–931.

责任编委: 郭良栋 责任编辑: 王 威