

庞泉沟自然保护区华北落叶松与桦树林 土壤微生物群落结构*

周永娜¹ 乔沙沙¹ 刘晋仙¹ 贾彤¹ 李毳² 柴宝峰^{1**} 张乃桢³ 梁昭江³

¹山西大学黄土高原研究所 太原 030006

²山西财经大学环境经济学院 太原 030006

³山西文峪河国家级湿地公园管理局 交城 030510

摘要 落叶针叶林和落叶阔叶林是华北地区主要的森林类型，其地下生态系统在驱动生物地球化学循环过程中发挥重要作用。运用 Illumina 高通量测序技术分析庞泉沟自然保护区中海拔桦树 (*Betula platyphylla*) 林和华北落叶松 (*Larix principis-rupprechtii*) 林以及高海拔华北落叶松林的土壤微生物群落结构，同时对土壤过氧化氢酶、脲酶、蔗糖酶活性及土壤理化性质进行测定，分析各因子的变化规律及其之间的相关性。结果显示：1) 3个样地土壤脲酶、蔗糖酶活性与全碳、全氮、全硫、碳氮比呈极显著正相关；脲酶活性与 pH 显著负相关；过氧化氢酶活性与土壤理化性质均无显著相关性；同时3种酶的活性与细菌和真菌特定类群的丰度密切相关。2) 样地间土壤细菌群落结构具有一定差异，而真菌群落结构的差异较大，土壤理化性质对微生物群落的结构具有较大的影响。真菌群落中的煤炱目 (Capnodiales)、蜡壳耳目 (Sebacinales)、路霉目 (Lulworthiales)、锈革孔菌目 (Hymenochaetales) 的丰度与土壤全碳、全氮、全硫、碳氮比、含水率显著相关。3) 中海拔桦树林土壤细菌群落多样性和丰度高于华北落叶松林，真菌群落的丰度与之相反；高海拔落叶松林细菌群落多样性较低，而丰度较高，真菌群落则是丰度较低，多样性在高海拔落叶松林中最高，在桦树林中较低。综上，植被类型、土壤理化性质和微生物群落结构三者相互影响，因此可通过改变林下土壤微生物环境，制定出不同的育林措施，进而影响土壤生态系统的碳、氮、硫等循环进程，提高土壤肥力。（图2 表3 参41）

关键词 森林土壤微生物；群落多样性；土壤酶；土壤理化性质；庞泉沟自然保护区

CLC S714.3

Characteristics of the soil microbial community structures of *Betula platyphylla* and *Larix principis-rupprechtii* forests in the Pangquangou Reserve*

ZHOU Yongna¹, QIAO Shasha¹, LIU Jinxian¹, JIA Tong¹, LI Cui², CHAI Baofeng^{1**}, ZHANG Naizhen³ & LIANG Zhaojiang³

¹Institute of Loess Plateau, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

²Department of Environment and Economics, Shanxi University of Finance and Economics, Taiyuan 030006, China

³Administration of Wenyuhe National Wetland Park, Jiaocheng 030510, China

Abstract As two major forest types in northern China, coniferous deciduous and broad-leaved deciduous forests have long been of interest to ecologists. However, little is known about their below-ground ecosystems, such as the biodiversity and assemblages of their microbial communities, despite their ecological importance in driving biogeochemical cycling. Here, we used Illumina MiSeq sequencing of the 16S rRNA and ITS gene to analyze microbial communities in soils from *Betula platyphylla* and *Larix principis-rupprechtii* forests at a middle elevation and soil from a *L. principis-rupprechtii* forest at high elevation in the Pangquangou Reserve. In addition, catalase, urease, and invertase activities and soil physicochemical properties were measured to determine the correlations between them. We observed the following: 1) Soil physicochemical properties were significantly different between the three plots and that there was a significant positive correlation between urease and invertase activities and total carbon, total nitrogen, total sulfur, and the carbon/nitrogen ratio. Urease activity showed a significant negative correlation with pH. In addition, activities of the three soil enzymes correlated with the abundances of specific operational taxonomic units

收稿日期 Received: 2016-08-01 修订日期 Received: 2016-10-19

*国家自然科学基金项目（31540054）、山西省回国留学人员科研资助项目（2012-059）和山西省科技攻关项目（20150313001-3） Supported by the National Natural Science Foundation of China (31540054), the Research Project of Shanxi Scholarship Council of China (2012-059), and the Science and Technology Project of Shanxi (20150313001-3)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: bfchai@sxu.edu.cn)

of bacterial and fungi in the soil microbial communities. 2) The differences in the community structure of fungi between the three plots was greater than that the bacterial communities. Bacterial community structure and diversity were closely related to total carbon, total nitrogen, total sulfur, pH, and soil particle size, whereas the abundance of the fungi Capnodiales, Sebacinales, Lulworthiales, Hymenochaetales were closely associated with total carbon, total nitrogen, total sulfur, the carbon/nitrogen ratio, and moisture content. 3) At the middle elevation, the abundance and diversity of soil bacteria in the *B. platyphylla* forest were greater than that of *L. principis-rupprechtii* forest; in contrast, soil fungal abundance and diversity in the *L. principis-rupprechtii* forest were greater. Soil bacterial diversity in the *L. principis-rupprechtii* forest at high elevation was less than that in forests at lower elevation, but the abundance was greater. In contrast, the abundance of fungi was relatively low, and the diversity was high. Because of interaction among vegetation type, soil characteristics and structure of microbial community, the soil environment can be changed, through the development of various forest management strategies, to promote recycling of carbon, nitrogen, sulfur and phosphorus and improve soil fertility.

Keywords forest soil microbial community; community diversity; soil enzyme; soil physicochemical property; Pangquangou Reserve

森林是一种典型的陆地生态系统,在全球碳汇和物质循环过程中发挥着重要作用,其中土壤微生物担负着土壤中大约90%的有机质的分解^[1-2],驱动生物地球化学循环过程。不同植被类型(如针叶林和阔叶林)的凋落物的生物化学成分差异较大,很大程度上影响着林下土壤的理化性质,进而对土壤微生物群落结构和多样性以及土壤酶活性产生影响^[3-4]。土壤酶的活性既可反映微生物的状态,又可反映土壤理化性质的动态^[5]。在温带森林中的研究显示,生物因子对微生物的影响主要表现在诸如植物群落的组成^[6]、生产力^[7]、根系密度^[8]等。森林生态系统中的真菌群落的分布与非生物因子,如土壤pH^[9]、土壤营养^[10]和海拔高度^[11]等密切相关,支持微生物群落形成过程中环境选择的作用^[12]。目前微生物群落多样性和结构维持机制的研究是微生物生态学的热点问题之一^[13],许多研究结果对环境选择作用提出质疑,强调扩散限制的作用^[14],但在不同生境下的研究结果存在差异^[15]。在陆地生态系统中,森林土壤生态系统微生物群落结构稳定、生物多样性丰富,对森林土壤营养物质循环以及温室气体的源-汇功能发挥重要作用。我国森林类型较多,各类型之间生境差异明显。落叶针叶林和落叶阔叶林是华北地区的两种主要的森林类型,针对两种森林类型土壤细菌和真菌群落结构特征的比较研究较少。对影响森林土壤微生物群落结构的环境因子进行研究,不仅有助于了解微生物群落的构建机制,也为预测微生物群落对环境条件变化的响应、适应和反馈提供理论依据。

寒温性针叶林华北落叶松(*Larix principis-rupprechtii*)林广泛分布于寒温带及温带、亚热带高海拔山地,是北半球主要的森林类型。桦树林是典型的温性阔叶林,以白桦(*Betula platyphylla*)和红桦(*B. albosinensis*)为主,主要分布于北温带,在我国东北、华北、西北和西南都有分布。庞泉沟自然保护区位于吕梁山脉的关帝山腹地,是以保护世界珍禽褐马鸡(*Crossoptilon mantchuricum*)及其栖息地华北落叶松、云杉(*Picea* spp.)天然次生林为主的森林和野生动物类型的自然保护区。区内生境复杂多样,动植物资源丰富,植被从海拔1 600 m到2 831 m呈明显的垂直地带性分布。其中华北落叶松分布于海拔1 600-2 800 m,白桦林分布于海拔1 600-2 500 m,红桦林分布于海拔1 600-2 100 m。森林群落类型多样、结构差异明显。在本区可以在小尺度范围忽略气候因子

的差异,研究植被类型和土壤环境因子对微生物群落结构和功能的影响,又可以利用不同海拔高度研究气候因子的影响,是研究微生物群落结构和功能的理想实验室。然而,早期由于没有更为成熟的采样方法和实验技术,不注重微生物与其生存环境之间的关系,认识非常有限,目前针对针叶林和阔叶林土壤细菌和真菌群落结构特征的比较研究还较少。因此本研究基于16S rRNA和ITS的高通量测序技术探讨该区落叶针叶林(华北落叶松)和落叶阔叶林(桦树林)土壤微生物群落的结构,旨在揭示微生物群落结构和功能受气候、环境因子和植被类型的调控机制,为生物多样性保护和森林管理措施的制定提供依据^[16]。

1 材料与方法

1.1 样地概况

研究地设在吕梁山脉中段关帝山庞泉沟国家级自然保护区内(111°22'E-111°33'E, 37°45'N-37°55'N)。该区属暖温带季风大陆性气候,年平均气温4.3 °C, 1月平均温度-10.2 °C, 7月平均温度17.5 °C。年平均降水量822.6 mm, 年平均蒸发量1 268 mm^[17]。受海拔、地形和森林等多种因素的影响,与省内同纬度地区相比,气温偏低,变幅较大,空气湿度偏高,为典型的山地气候。桦树林样地设在大龙门,海拔2 061 m;中海拔(2 050 m)华北落叶松林样地设在罗坂沟;高海拔(2 709 m)华北落叶松林样地设在云顶山顶。

1.2 样品采集与分析

1.2.1 样品采集 2015年7月初,在每个样地设置10 m × 10 m的样方,在样方的对角线上选取5个1 m × 1 m小样方,在每个小样方中按照“S”形选择3个采样点。除去地表的植物和覆盖物,取0-20 cm深处的非根际土壤,将所得的新鲜土样分为两份,用无菌自封袋密封,置于冰盒中带回实验室。一份风干后过2 mm孔径土壤筛,用于土壤各种理化性质及土壤酶的测定,土壤酶活性测定在一周之内完成。另一份鲜样保存在-80 °C冰箱中,用于高通量测序。

1.2.2 样品分析 土壤含水量用烘干法测定,土壤孔隙度由土壤容重和比重计算得出,pH值(土水比为1:2.5)用电位法测定^[18]。全碳、全氮及全硫用vario MACRO cube元素分析仪测定;土壤颗粒物粒径用马尔文激光粒度仪(Mastersizer

3000) 测定, 用国际制土壤质地分类法分析土壤质地。用LI-6400光合作用系统的温度探针同步测定20 cm深度的土壤温度。脲酶采用苯酚钠-次氯酸钠比色法, 其活性以37 °C下培养24 h后1 g土壤产生的NH₃-N的mg数表示; 蔗糖酶采用3,5-二硝基水杨酸比色法, 其活性以37 °C培养24 h后1 g土壤产生的葡萄糖的mg数表示; H₂O₂酶采用KMnO₄滴定法, 其活性以20 min内每克土壤分解的过氧化氢的mg数表示^[19]。

土壤微生物基因组DNA用OMEGA土壤试剂盒提取, 具体步骤见说明书。将每个样地的土样中提取出的DNA样品充分混合后, 送往上海生物工程有限公司进行高通量测序。通过 Illumina Hiseq测序平台, 利用引物341 (CCCTACACGACGC TCTTCCGATCTG(barcode)CCTACGGGNNGCWGCAG) 和 805R (GAATGGAG TTCCTTGGCA CCCGAGAATTCCAG ACTA CHVGGGTATCTAATCC) 对16S rDNA高变区V3-V4区进行测序。利用引物ITS1F (CCCTACACGACGCTTTCCG ATCTN(barcode)CTTGGTCATTAGAGGAAGTA A) 和 ITS2R (GTGACTGGAG TTCCTTGGCACCCGAGAATTCCAGC TGCG TTCTTCATCGATGC) 对ITS1区域进行测序。

1.3 数据处理

采用SPSS17.0软件进行数据分析, 用单因素方差分析比较不同样地土壤酶及理化性质的差异性。采用Pearson双侧检验法分析土壤微生物、土壤酶活性与土壤理化性质的相关性。用EXCEL软件作图。利用mothur软件计算土壤细菌群落的Alpha多样性值, 包括Shannon指数、Chao1指数、Simpson指数和ACE指数等, 用以评估样品中的物种丰富度和物种多样性。使用Canoco4.5软件对土壤环境因子和细菌、真菌群落进

行冗余分析(Redundancy analysis, RDA)。高通量测序结果显示, 在科和属水平未注释的微生物种类较多, 而丰度大于1%的类群过多, 所以本研究选择在目水平进行微生物多样性分析。

2 结果

2.1 不同森林类型的土壤理化性质与土壤酶活性

研究区中海拔桦树林和华北落叶松林以及高海拔华北落叶松林的土壤理化性质具有一定的差异。表1中可以看出桦树林土壤孔隙度最大, 两个华北落叶松林基本相同。而桦树林土壤粒径最小(125 μm), 高海拔落叶松林的最大(606 μm), 不同海拔的落叶松林土壤粒径差异显著。根据土壤粘粒、粉粒和砂粒含量划分土壤质地, 同海拔的桦树林和落叶松林土壤均为砂壤土, 高海拔落叶松林地土壤为壤砂土, 其中砂粒含量最高(83.04%), 粘粒含量最低(0.19%)。高海拔落叶松样地土壤含水率显著高于低海拔落叶松和桦树林。落叶松林地土壤pH值显中性偏酸, 桦树林样地则是中性偏碱。土壤总氮和总碳含量在3个样地间差异显著, 而土壤总硫含量在高海拔和中海拔样地间具有显著差异。高海拔华北落叶松林样地中, 土壤碳氮硫含量显著高于中海拔落叶松和桦树林。同海拔情况下, 桦树林样地土壤氮和碳显著高于落叶松林地。

由以上可知, 不同植被类型的土壤理化性质具有一定的差异, 土壤酶的活性受到土壤理化性质的影响。如表2所示, 3个样地间蔗糖酶和脲酶活性的差异显著, 其中高海拔落叶松

表1 样地基本信息与土壤理化性质

Table 1 Basic information and physicochemical profile of sampling sites

参数 Parameter	桦树林 <i>Betula platyphylla</i> forest	华北落叶松林1 <i>Larix principis-rupprechtii</i> forest 1	华北落叶松林2 <i>Larix principis-rupprechtii</i> forest 2
地理位置 Geographical location	111°29'30"E, 37°51'50"N 2061	111°32'22.81"E, 37°53'13.93"N 2709	111°30'33.77"E, 37°53'06.30"N 2050
孔隙度 Porosity (P%)	56.23 ± 8.06a	45.57 ± 10.37a	46.28 ± 8.68a
粒径 Particle size (d/μm)	125 ± 12.85c	606 ± 24.71a	279 ± 34.02b
粘粒 Clay (w%)	2.46 ± 0.02a	0.19 ± 0.21b	2.29 ± 0.27a
粉粒 Silt (w%)	45.44 ± 0.44a	16.77 ± 4.11c	36.19 ± 2.38b
砂粒 Sand (w%)	52.08 ± 0.46c	83.04 ± 4.29a	61.55 ± 2.62b
质地 Soil texture	砂壤土 Silty loam	壤砂土 Loamy sand	砂壤土 Silty sand
pH	7.06 ± 0.02a	5.93 ± 0.06c	6.67 ± 0.006b
含水率 Moisture content (w%)	24.12 ± 4.81b	47.93 ± 7.71a	22.4 ± 0.86b
温度 Temperature (θ/°C)	15.03 ± 0.76ab	14.61 ± 1.37b	16.83 ± 1.09a
全氮 Total nitrogen (w%)	0.21 ± 0.03b	0.45 ± 0.003a	0.16 ± 0.08c
全碳 Total carbon(w%)	2.73 ± 0.03b	6.91 ± 0.03a	1.97 ± 0.09c
碳氮比 Carbon nitrogen ratio	13.05 ± 0.27b	15.47 ± 0.13a	12.69 ± 0.12b
全硫 Total sulfur (w%)	0.04 ± 0.005b	0.12 ± 0.01a	0.05 ± 0.003b

表中数据为平均值 ± 标准差, 同行不同字母表示不同样地之间差异显著 ($P < 0.05$)。

Data in the table are mean ± standard deviation. Different letters in the same row mean significant difference among different soil plots separately at 0.05 level.

表2 不同森林类型样地间的土壤酶活性

Table 2 Soil enzyme activities among different forest plots

酶活 Enzyme activity	桦树林 <i>Betula platyphylla</i> forest	华北落叶松林1 <i>Larix principis-rupprechtii</i> forest 1	华北落叶松林2 <i>Larix principis-rupprechtii</i> forest 2
蔗糖酶活性 Invertase activity (λ/mg g ⁻¹ d ⁻¹)	3.84 ± 0.25b	6.07 ± 0.37a	1.61 ± 0.09c
脲酶活性 Urease activity (λ/mg g ⁻¹ d ⁻¹)	1.69 ± 0.08b	2.25 ± 0.08a	1.57 ± 0.003b
H ₂ O ₂ 酶活性 Catalase activity (λ/mg g ⁻¹ (20 min) ⁻¹)	0.71 ± 0.05a	0.74 ± 0.05a	0.68 ± 0.1a

表中数据为平均值 ± 标准差, 同行不同字母表示不同样地之间差异显著 ($P < 0.05$)。

Data in the table are mean ± standard deviation. Different letters in the same row mean significant difference among different soil plots separately at 0.05 level.

两种酶的活性最高；同海拔情况下，桦树林样地的两种酶活性较高。而过氧化氢酶活性在3个样地间没有差异，这一趋势与土壤碳氮含量一致。分析结果表明，研究区森林土壤蔗糖酶活性与土壤温度呈显著性负相关($r = -0.668$)，与土壤全硫含量呈显著性正相关($r = 0.753$)，与土壤全碳($r = 0.921$)、全氮($r = 0.932$)及碳氮比($r = 0.906$)呈极显著正相关。土壤脲酶活性与土壤含水率呈显著正相关($r = 0.75$)，与全氮($r = 0.986$)、全碳($r = 0.985$)、碳氮比($r = 0.966$)及全硫($r = 0.922$)呈极显著正相关，与土壤pH极显著负相关($r = -0.86$)。过氧化氢酶活性与土壤的各种理化性质呈非显著性相关。

2.2 土壤微生物群落

2.2.1 土壤微生物优势菌相对丰度 3个样地优势细菌相对丰度大于1%的共有25个目，优势细菌目的相对丰度和群落结构较为相似(图1)。丰度较大具有分解糖类、脂类、蛋白质等有机质的细菌有鞘脂杆菌目(Sphingobacteriales)(8.32% - 5.75%)、鞘脂单胞菌目(Sphingomonadales)(6.6% - 4.57%)、伯克氏菌目(Burkholderiales)(4.53% -

3.81%)、芽单胞菌目(Gemmatimonadales)(4.35% - 2.49%)、浮霉菌目(Planctomycetales)(3.79% - 3.03%)、肠杆菌目(Enterobacteriales)(11.82% - 3.39%)、黄色单胞菌目(Xanthomonadales)(3.27% - 1.82%)、拟杆菌目(Bacteroidales)(11.54% - 0.86%)、噬纤维菌目(Cytophagales)(2.47% - 0.88%)、黏球菌目(Myxococcales)(3.3% - 1.33%)；具有固氮和固碳^[20]的细菌有红螺菌目(Rhodospirillales)(2% - 0.98%)、亚硝化单胞菌目(Nitrosomonadales)(2.67% - 2.23%)、根瘤菌目(Rhizobiales)(6.38% - 3.89%)、红环菌目(Rhodocyclales)(3.62% - 2.28%)。

3个样地优势真菌相对丰度大于1%的共有18个目，高海拔华北落叶松林、中海拔桦树林和华北落叶松林优势真菌目的相对丰度和群落结构差异较大(图2)，丰度较大的有红菇目(Russulales)(0.21%、82.83%、0.21%)、伞菌目(Agaricales)(10.77%、8.11%、54.45%)、革菌目(Thelephorales)(1.43%、0.59%、9.84%)、煤炱目(Capnodiales)(9.7%、0%、0.01%)、酵母目(Saccharomycetales)(4.72%、

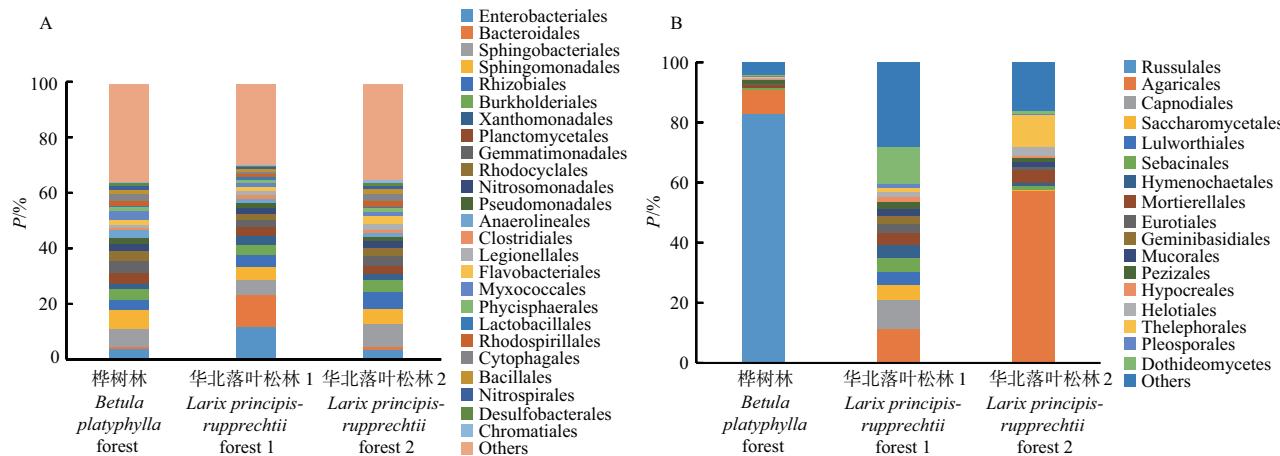


图1 优势细菌目(A)和优势真菌目(B)相对丰度。

Fig. 1 Relative abundance of dominant bacteria order (A) and fungus order (B).

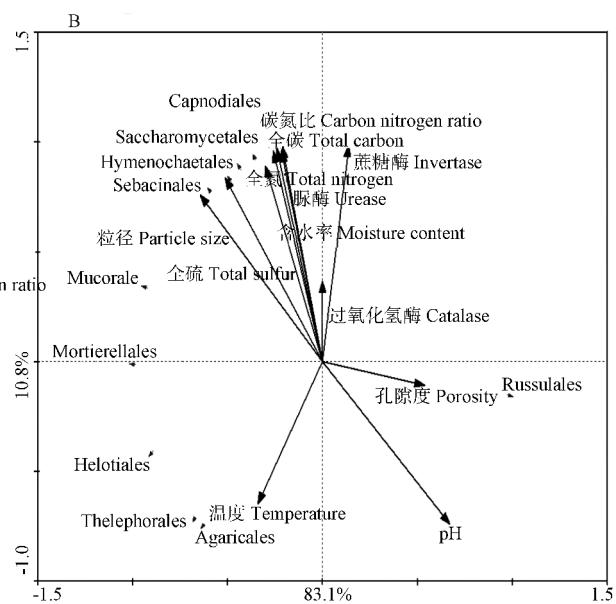
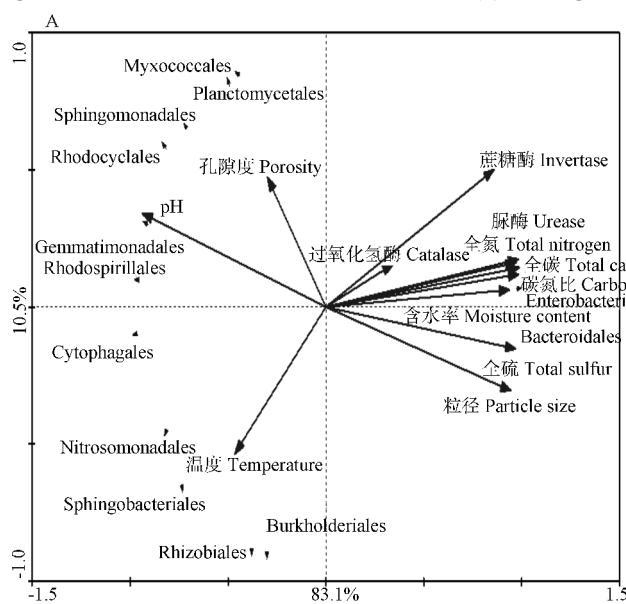


图2 优势细菌目(A)和优势真菌目(B)与土壤环境因子的冗余分析。

Fig. 2 Redundancy analysis (RDA) on soil dominant bacteria order (A) and soil dominant fungus order (B) constrained by soil variables.

0.09%、0.33%)、蜡壳耳目(Sebacinales)(4.36%、0.32%、1.35%)、锈革孔菌目(Hymenochaetales)(4.32%、0.12%、0.79%)、被孢霉目(Mortierellales)(3.71%、0.9%、4.23%)、柔膜菌目(Helotiales)(1.54%、0.27%、3.13%)、散囊菌目(Eurotiales)(3.1%、0.48%、0.78%)、盘菌目(Pezizales)(2.19%、1.41%、1.31%)、毛霉目(Mucorales)(2.19%、0.02%、1.76%)，另外有座囊菌纲的一个未命名的目(11.88%、0.22%、0.87)。丰度较小的有肉座菌目(Hypocreales)(1.7%、0.11%、0.42%)和格孢腔菌目(Pleosporales)(1.33%、0.16%、0.47%)。

2.2.2 土壤微生物优势菌与土壤理化性质的关系 对优势细菌目和优势真菌目相对丰度与土壤环境因子进行冗余分析，结果(图3)显示细菌和真菌丰度分布第1轴和第2轴累计解释变异量分别达到91.9%和93.9%，说明土壤理化性质与土壤酶对细菌与真菌群落结构有着紧密的关系。优势细菌目相对丰度与土壤环境因子的冗余分析中，脲酶($r = 0.9061$)、蔗糖酶($r = 0.9437$)、过氧化氢酶($r = 0.3828$)、碳氮比($r = 0.9922$)和粒径($r = 0.8721$)与轴1相关性较大，解释率达到了81.4%；全硫($r = 0.9282$)和pH($r = 0.8933$)与轴2相关性较大。优势真菌目相对丰度与土壤环境因子的冗余分析中，脲酶($r = 0.9849$)、蔗糖酶($r = 0.921$)、过氧化氢酶($r = 0.3668$)和粒径($r = 0.8917$)与轴1的相关性较大，解释率达到了83.1%；全硫($r = 0.9381$)和pH($r = -0.8853$)与轴2相关性较大。总之，细菌和真菌群落结构与土壤碳氮比、全硫、pH、粒径、脲酶、蔗糖酶和过氧化氢酶活性紧密相关。

2.2.3 土壤微生物群落 α 多样性分析 表3所示，桦树林样地土壤细菌群落多样性最高，Shannon指数为8.13，其次是中海拔落叶松林地，而土壤细菌的丰富度在桦树林样地最高，ACE指数/Chao1指数分别为36 893.63和19 424.92，其次是高海拔落叶松林地。总的来看，桦树林样地土壤细菌群落的多样性和丰富度高于华北落叶松林。处于不同海拔高度的华北落叶松林样地土壤营养物质(碳、氮、硫)差异明显，高海拔林地土壤营养积累丰富，细菌丰富度较高，而低温限制了土壤细菌多样性。与细菌群落多样性相反，落叶松林地土壤真菌群落的多样性高于桦树林地(表4)，高海拔落叶松林地土壤真菌群落多样性高于中海拔落叶松林地。就丰富度而言，中海拔落叶松林地大于高海拔。可见，真菌群落多样性受土壤营养的影响较大，而温度影响真菌群落的丰富度。

表3 3个森林样地土壤微生物群落多样性

Table 3 Diversity of microbial communities in soil of three forest plots

样地 Plots		序列 Reads	分类单元 OTUs	Shannon指数 Shannon index	ACE指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	覆盖率 Coverage (r%)	辛普森指数 Simpson index
桦树林 <i>Betula platyphylla</i> forest	细菌 Bacteria	12828	6392	8.13	36893.63	19424.92	0.640	0.00119
	真菌 Fungus	33324	816	2.52	1341.07	1149.88	0.991	0.363
华北落叶松 <i>Larix principis-rupprechtii</i> forest 1	细菌 Bacteria	13327	5609	7.50	29807.24	17136.75	0.697	0.00754
	真菌 Fungus	16027	596	4.62	790.95	834.68	0.990	0.030
华北落叶松 <i>Larix principis-rupprechtii</i> forest 2	细菌 Bacteria	14965	6377	8.08	28758.63	16520.81	0.712	0.00093
	真菌 Fungus	30353	956	3.97	1827.05	1540.38	0.988	0.107

3 讨论

微生物在陆地生态系统物质循环、能量转换及污染物降解等过程中发挥重要作用^[21]。在土壤生态系统中，微生物担当了包括土壤碳、氮和硫循环在内的多种生态功能^[22]，微生物碳、氮、硫和磷是微生物养料物质(Microbial nutrient substance)，是土壤乃至整个生态系统物质循环的重要维持者和土壤环境敏感的指示者^[23]。为了全面认识土壤微生物群落的生态功能，就必须了解其时空演变规律及形成机理^[12]。与动植物相比，微生物体积小、数量大、代谢速率快、变异性强，那么动植物群落构建理论是否适用于微生物呢？对土壤微生物群落的研究结果显示，土壤对微生物的影响主要体现在通过具体生境选择能够在此生存适应的微生物，同时植物多样性影响微生物群落多样性^[24]。也有研究认为土壤微生物在大尺度范围内不是随机分布的，土壤微生物地理分布与所处的土壤类型和土地利用密切相关，与动植物的地理分布规律不同，受气候和地形地貌影响较小^[25-27]。两种植被类型桦树林和两个华北落叶松林土壤的细菌群落结构具有一定的差异，而真菌群落结构则有较大差别。在本研究中，同海拔情况下落叶阔叶桦树林土壤细菌丰度高于落叶松林，高海拔情况下细菌多样性较低。与之相反，同海拔情况下落叶松林土壤中真菌群落的丰度高于落叶阔叶林桦树林，高海拔落叶松土壤细菌丰度高，真菌的丰度较低，多样性最高。说明环境气候条件和植被类型对森林土壤微生物群落多样性和结构的影响较大。植物通过凋落物、植物残体、根系和根系分泌物等形式向土壤输送营养物质，从而影响土壤有机碳和氮的水平及存在形态、土壤的通气状况、pH等^[28-29]。在土壤营养物质循环过程中，真菌途径为慢周转方式，存在于酸性土壤，偏好低营养、难分解有机物(纤维素和木质素)^[30]，能够更有效地利用有机物^[31]。而细菌途径主要发生在营养丰富的土壤中，这些土壤中富含易分解的有机质，有较快的碳周转和营养循环速率，但细菌对有机质的利用效率较低^[32]。根据生活史对策，微生物可以分为r对策(r-strategist)，即生长和繁殖快，资源利用率低；k对策(k-strategist)，即生长和繁殖慢，资源利用率高^[33]。因此，土壤微生物群落中，真菌为K对策，细菌为r对策^[34]。K对策生物丰富的群落对干扰具有更大的抗性(Resistance)，但受干扰后恢复力(Resilience)低^[35]。土壤微生物群落中真菌/细菌比率反映群落的稳定性和恢复力。本研究中土壤真菌/细菌(Fungal-to-bacteria, F/B)的丰富度比值和丰度比值比较而言，中海拔的落叶松林地(ACE: 0.064; Chao1: 0.093; OUT: 0.15)高于桦树林地(ACE: 0.036; Chao1: 0.059; OUT:

0.128), 说明该区华北落叶松林土壤微生物群落更为稳定。而位于高海拔的华北落叶松林土壤微生物的F/B比值(ACE: 0.027; Chao1: 0.049; OUT: 0.106)低于中海拔落叶松林, 说明高海拔落叶松林土壤微生物群落抗性低, 但恢复力强。这是因为高海拔区温度季节差异较大, 降水频繁, 土壤营养丰富, 微生物群落受到气候变化的干扰更为强烈, 受到干扰后的群落能够快速恢复。多样性-稳定性理论认为, 土壤微生物群落是一个动态变化的自组织系统, 通过遗传来维持其组成的稳定性, 通过演替而适应外界环境^[36]。根据该理论提出的时间和空间上微生物群落构建机制模型^[37], 解释本研究在空间水平上微生物群落表现出与环境梯度密切相关的空间分布特征。另一方面, 本研究基于空间小尺度局域范围海拔高度, 生态位理论的作用明显^[38], 即环境因子所塑造的特定“生境(Habitat)”对土壤微生物群落的结构具有重要的影响。

土壤作为地上植物群落和地下微生物群落联系的枢纽, 是各种复杂的生态过程发生的场所。动植物和微生物群落之间、微生物群落内物种间、微生物群落与环境因子间相互作用, 都会对微生物群落的时空演变产生影响。微生物通过分泌各种土壤酶介导土壤营养物质的循环, 改变土壤环境, 进而影响植物群落的生长和结构; 植物通过营养输入和对内生菌、根际微生物的直接影响^[39], 从而影响微生物群落的结构。植物群落和微生物群落相互影响和相互改变, 形成正反两方面的反馈作用, 驱动各自群落结构的演变, 也影响了土壤元素的循环过程和组分。另外, 本研究仅考虑了微生物、土壤酶和有效养分含量的空间特征, 这些因子也存在一定的季节变化动态, 其间的相互关系在不同季节有可能发生变化, 有待进一步研究。目前, 针对植物群落、微生物群落、土壤环境因子和土壤酶相互作用关系开展了大量研究工作^[40-41], 但是它们之间的因果关系仍然是一个“黑箱”。在全球气候变化背景下, 对土壤微生物和植被的格局及其在时空尺度上的演化规律的联系及其相互关系的研究, 有助于准确评估气候变化的环境生态效应。

4 结论

(1) 植被类型和气候因子影响土壤的理化性质, 土壤酶的活性受植被类型和土壤理化性质的影响。微生物是土壤酶的主要来源之一, 土壤酶的活性与特定类群的细菌和真菌的丰度密切相关。

(2) 微生物群落的多样性和丰富度与植被类型相关, 落叶阔叶林土壤中细菌群落的多样性高于落叶针叶林土壤, 而落叶阔叶林土壤中真菌群落的多样性低于落叶针叶林土壤。

(3) 海拔高度影响土壤微生物的多样性和丰度, 高海拔落叶松林土壤中细菌群落的多样性低, 而丰富度较高, 而真菌群落的多样性高, 丰富度较低。

(4) 植被类型、土壤理化性质、微生物群落结构三者之间相互影响, 调控土壤酶的活性, 影响土壤生态系统的物质积累与循环, 各因子间相互作用与协同演化具体机制有待深入研究。

参考文献 [References]

- 1 卫云燕, 尹华军, 刘庆, 黎云祥. 气候变暖背景下森林土壤碳循环研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2009, 15 (6): 888-894 [Wei YY, Yin HJ, Liu Q, Ni YX. Advance in research of forest carbon cycling under climate warming [J]. Chin J Appl Environ Biol, 2009, 15 (6): 888-894]
- 2 Rutigliano FA, D'Ascoli R, Santo AVD. Soil microbial metabolism and nutrient status in a Mediterranean area as affected by plant cover [J]. *Soil Biol Biochem*, 2004, 36 (11): 1719-1729
- 3 Chapman SK, Newman GS. Biodiversity at the plant-soil interface: microbial abundance and community structure respond to litter mixing [J]. *Oecologia*, 2010, 162 (3): 763-769
- 4 Wang C, Guo P, Han G, Feng X, Zhang P, Tian X. Effect of simulated acid rain on the litter decomposition of *Quercus acutissima* and *Pinus massoniana* in forest soil microcosms and the relationship with soil enzyme activities [J]. *Sci Tot Environ*, 2010, 408 (13): 2706-2713
- 5 Sinsabaugh RL, Hill BH, Shah JJF. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment [J]. *Nature*, 2009, 462 (7274): 795-798
- 6 Roy M, Rochet J, Manzi S, Jargeat P, Gryta H, Moreau P-A, Gardes, M. What determines *Alnus*-associated ectomycorrhizal community diversity and specificity? A comparison of host and habitat effects at a regional scale [J]. *New Phytol*, 2013, 198 (4): 1228-1238
- 7 Kranabetter JM, Durall DM, Mackenzie WH. Diversity and species distribution of ectomycorrhizal fungi along productivity gradients of a southern boreal forest [J]. *Mycorrhiza*, 2009, 19 (2): 99-111
- 8 Peay KG, Kennedy PG, Bruns TD. Rethinking ectomycorrhizal succession: are root density and hyphal exploration types drivers of spatial and temporal zonation? [J]. *Fungal Ecol*, 2011, 4 (3): 233-240
- 9 Lme SP, Bahram M, Yamanaka T, Nara K, Dai YC. Biogeography of ectomycorrhizal fungi associated with alders (*Alnus* spp.) in relation to biotic and abiotic variables at the global scale [J]. *New Phytol*, 2013, 198 (4): 1239-1249
- 10 Cox F, Barsoum N, Lilleskov EA, Bidartondo M I. Nitrogen availability is a primary determinant of conifer mycorrhizas across complex environmental gradients [J]. *Ecol Lett*, 2010, 13 (9): 1103-1113
- 11 Bahram M, Lme SP, Ljalg UK, Zarre S, Tedersoo L. Regional and local patterns of ectomycorrhizal fungal diversity and community structure along an altitudinal gradient in the Hyrcanian forests of northern [J]. *New Phytol*, 2012, 193 (2): 465-473
- 12 Bass-Becking LGM. Geobiologie of inleiding tot de milieukunde [M]. Hague, the Netherlands: WP Van Stockum & Zoon, 1934: 263
- 13 贺纪正, 葛源. 土壤微生物生物地理学研究进展[J]. 生态学报, 2008, 28 (11): 5571-5582 [He JZ, Ge Y. Recent advances in soil microbial biogeography [J]. *Acta Ecol Sin*, 2008, 28 (11): 5571-5582]
- 14 Tedersoo L, Bahram M, Jairus T, Becham E, Chinoya S. Spatial structure and the effects of host and soil environments on communities of ectomycorrhizal fungi in wooded savannas and rain forests of Continental [J]. *Mol Ecol*, 2011, 20 (14): 3071-3080
- 15 Bahram M, Ljalg UK, Courty PE, Diédiou AG, Ller RK. The distance decay of similarity in communities of ectomycorrhizal fungi in different ecosystems and scales [J]. *J Ecol*, 2013, 101 (5): 1335-1344
- 16 张丽, 杨万勤, 吴福忠, 徐振锋, 谭波, 刘洋, 王奥, 何伟. 川西亚高山/高山森林土壤微生物对季节性冻融的响应[J]. 应用与环境生物学报

- 学报, 2015, **21** (3): 505-511 [Zhang L, Yang WQ, Wu FZ, Xu ZF, Tan B, Liu Y, Wang O, He W. Soil microbe responses to seasonal freeze-thaw in the subalpine/alpine forests of western Sichuan [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2015, **21** (3): 505-511]
- 17 杨秀清, 韩有志, 李乐, 陈欣, 游静. 华北山地典型天然次生林土壤氮素空间异质性对落叶松幼苗更新的影响[J]. 生态学报, 2009, **29** (9): 4656-4664 [Yang XQ, Han YZ, Li L, Chen J, You J. The effect of heterogeneous spatial distribution of soil nitrogen on regeneration of *Larix principis-rupprechtii* seedlings in typical naturally-regenerated montane forests of Northen China [J]. *Acta Ecol Sin*, 2009, **29** (9): 4656-4664]
- 18 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 296-338 [Lu RK. Methods of soil agricultural chemistry analysis [M]. Beijing: Chinese Agricultural Science and Technology Press, 1999: 296-338]
- 19 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986 [Guan SY. Soil enzyme and study methods [M]. Beijing: Agriculture Publishing House, 1986.]
- 20 Hesselsoe M, Fürreder S, Schloter M, Bodrossy L, Iversen N. Isotope array analysis of Rhodocyclales uncovers functional redundancy and versatility in an activated sludge [J]. *ISME J*, 2009, **3**: 1349-1364
- 21 贺纪正, 陆雅海, 傅伯杰. 土壤生物学前沿[M]. 北京: 科学出版社, 2015 [He JZ, Lu YH, Fu BJ. Frontiers of Soil Biology [M]. Beijing: Science Publishing House, 2015]
- 22 Chapin FI, Mcfarland J, David McGuire A. The changing global carbon cycle: linking plant-soil carbon dynamics to global consequences [J]. *J Ecol*, 2009, **97** (5): 840-850
- 23 滕应, 黄昌勇, 龙健, 姚槐应. 复垦红壤中牧草根际微生物群落功能多样性[J]. 中国环境科学, 2003, **23** (3): 295-299 [Teng Y, Huang CY, Long J. Functional diversity of microbial community in herbage rhizosphere of reclaimed red soils [J]. *China Environ Sci*, 2003, **23** (3): 295-299]
- 24 王光华, 金剑, 徐美娜, 刘晓冰. 植物、土壤及土壤管理对土壤微生物群落结构的影响[J]. 生态学杂志, 2006, **25** (5): 550-556 [Wang GH, Jin J, Xu MN, Lin XB. Effects of plant, soil and soil management on soil microbial community diversity [J]. *Acta Ecol Sin*, 2006, **25** (5): 550-556]
- 25 Samuel D, Jean T, Claudy J, Saby N, Mélanie L, Pierre AM, Martin MP, Benoit T, Dominique A. Biogeographical patterns of soil bacterial communities [J]. *Environ Microbiol Rep*, 2009, **1** (4): 251-255
- 26 Ranjard L, Dequiedt S, Jolivet C, Saby N, Thioulouse J, Harmand J, Loisel P, Rapaport A, Fall S, Simonet P. Biogeography of soil microbial communities: a review and a description of the ongoing french national initiative [J]. *Agronr Sustain Dev*, 2010, **30** (2): 359-365
- 27 Dequiedt S, Saby N, Lelievre M, Jolivet C, Thioulouse J. Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management [J]. *Glob Ecol Biogeogr*, 2011, **20** (4): 641-652
- 28 陈法霖, 张凯, 郑华, 林学强, 欧阳志云, 唐乃美. PCR-DGGE技术解析针叶和阔叶凋落物混合分解对土壤微生物群落结构的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2011, **17** (2): 145-150 [Chen FL, Zhang K, Zheng H, Lin XQ, Ouyang ZY. Analyzing the effect of mixed decomposition of conifer and broadleaf Litters on soil microbial communities by using PCR-DGGE [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2011, **17** (2): 145-150]
- 29 唐仕姗, 杨万勤, 何伟, 王海鹏, 熊莉, 聂富育, 徐振锋. 川西亚高山3种优势林木不同径级根系分解及木质素、纤维素降解特征[J]. 应用与环境生物学报, 2015, **21** (4): 754-761 [Tang SS, Yang WQ, He W, Wang HP, Xiong L, Nie YF, Xu ZF. Root decomposition, lignin and cellulose degradation of three dominant subalpine trees of different diameters in western Sichuan [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2015, **21** (4): 754-761]
- 30 尹峻峰, 王涛. 真菌降解木质素的研究现状[J]. 云南林业科技, 2003 (1): 75-78 [Yin J, Wang T. Progress of study on fungi degrading lignin [J]. *Yunnan For Sci Technol*, 2003 (1): 75-78]
- 31 Blagodatskaya EV, Anderson TH. Interactive effects of pH and substrate quality on the fungal-to-bacterial ratio and q_{CO_2} of microbial communities in forest soils [J]. *Soil Biol Biochem*, 1998, **30** (10/11): 1269-1274
- 32 Ingwersen J, Poll C, Streck T, Kandeler E. Micro-scale modelling of carbon turnover driven by microbial succession at a biogeochemical interface [J]. *Soil Biol Biochem*, 2008, **40** (4): 864-878
- 33 Fierer N, Bradford M A, Jackson R B. Toward an ecological classification of soil bacteria [J]. *Ecology*, 2007, **88** (6): 1354-1364
- 34 Six J, Frey D, Thiet RK, Batten, KM. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems [J]. *Soil Sci Soc Am J*, 2006, **70** (2): 555-569
- 35 Lennon J, Aanderud Z, Lehmkühl B, Schoolmaster DR Jr. Mapping the niche space of soil microorganisms using taxonomy and traits [J]. *Ecology*, 2012, **93** (8): 1867-1879
- 36 贺纪正, 李晶, 郑袁明. 土壤生态系统微生物多样性-稳定性关系的思考[J]. 生物多样性, 2013, **21** (4): 411-420 [He JZ, Li J, Zheng YM. Thoughts on the microbial diversity-stability relationship in soil ecosystems [J]. *Biodiv Sci*, 2013, **21** (4): 411-420]
- 37 贺纪正, 王军涛. 土壤微生物群落构建理论与时空演变特征[J]. 生态学报, 2015, **35** (20): 6575-6583 [He JZ, Wang JT. Mechanisms of community organization and spatiotemporal patterns of soil microbial communities [J]. *Acta Ecol Sin*, 2015, **35** (20): 6575-6583]
- 38 曹鹏, 贺纪正. 微生物生态学理论框架[J]. 生态学报, 2015, **35** (22): 7263-7273 [Cao P, He JZ. A preliminary theoretical framework of microbial ecology [J]. *Acta Ecol Sin*, 2015, **35** (22): 7263-7273]
- 39 Wardle D, Bardgett R, Klironomos J, Setala H, Van der Putten W, Wall D. Ecological linkages between aboveground and belowground biota [J]. *Science*, 2004, **304** (5677): 1629-1633
- 40 Tedersoo L, Bahram M, Cajthaml T, Lme SP, Hiiesalu I. Tree diversity and species identity effects on soil fungi, protists and animals are context dependent [J]. *ISME J*, 2015, **10** (2): 346-362
- 41 王长庭, 龙瑞军, 王根绪, 刘伟, 王启兰. 高寒草甸群落地表植被特征与土壤理化性状、土壤微生物之间的相关性研究[J]. 草业学报, 2010, **19** (6): 25-34 [Wang CT, Long RJ, Wang GX, Liu W, Wang W, Wang QL. Relationship between plant communities, characters, soil physical and chemical properties, and soil microbiology in alpine meadows [J]. *Acta Pratacult Sin*, 2010, **19** (6): 25-34]