马尾松林经不同强度采伐后与肉桂混交对土壤微生物功能多样性的影响

喻素芳[1,2] 佘光辉[1] 李远发[2] 陈立金[3] 李丽娟[2] 叶绍明[2*]

([1]南京林业大学林学院, 南京 210037; [2]广西大学林学院, 南宁 530004; [3]广西林业种苗管理总站, 南宁 530022)

摘 要 混交林可以形成层次多或冠层厚的林分结构,对提高防护效能和稳定性具有重要作用。本研究先对20年林龄的马尾松(*Pinus massoniana*)人工林进行5种不同强度的采伐(皆伐、强度、中强度、中弱度和弱度,伐后郁闭度分别为0、0.4、0.5、0.6和0.7),然后在林下等量种植肉桂(*Cinnamomum cassia*)。7年后,应用BIOLOG-ECO技术探讨不同混交模式、林分类型对土壤微生物功能多样性的影响。结果表明,混交林的土壤理化性质、AWCD(average well color development)值和微生物功能多样性指数均优于马尾松和肉桂纯林,其中肉桂纯林最低、基于中弱度采伐而建的混交林最高(与马尾松纯林差异显著),且土壤微生物功能多样性随土层深度增加而降低。主成分分析结果显示,不同混交模式之间土壤微生物碳源利用特征分异不明显;而不同林分类型之间存在明显分异,主要起分异作用的是微生物对氨基酸类、羧酸类和糖类的利用特征,且不同林分类型对土壤微生物碳源利用的差异显著受土壤含水率与有机质含量影响;含水率、有机质、全氮、全磷、全钾含量和土壤碳氮比对土壤微生物群落功能多样性也有着重要影响。可见,马尾松林种植肉桂能提高微生物活性和功能多样性,本研究结果可为改造马尾松纯林为混交林提供参考。

关键词 混交林; 郁闭度; 土壤微生物; 功能多样性

The influences of mixing with *Cinnamomum cassia* after different cutting intensities in a masson pine forest on soil microbial functional diversity.

YU Su-fang[1,2], SHE Guang-hui[1], LI Yuan-fa[2], CHEN Li-jin[3], LI Li-juan[2], YE Shao-ming[2*] ([1]*College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing* 210037, *China*; [2]*College of Forestry, Guangxi University, Nanning* 530004, *China*; [3]*Central Station of Forestry Seedling Management in Guangxi, Nanning* 530022, *China*).

Abstract: Mixed forests play an important role in improving protective efficiency and stability of forest stands by establishing multilayer or thick-canopy structures. In this study, a 20-year-old masson pine (*Pinus massoniana*) plantation was harvested with 5 different cutting intensities (clear-cutting, heavy, moderate, light and very light grades), resulting in the canopy closure of 0, 0.4, 0.5, 0.6 and 0.7 respectively. Then cinnamon (*Cinnamomum cassia*) was planted equally to the quantity of removed masson pine. After the treatments for seven years, the BIOLOG-ECO method was applied to analyze the soil microbial functional diversity. The results showed that the soil physicochemical properties, AWCD (average well color development) and microbial community functional diversity index in mixed forests were superior to both the masson pine and cinnamon pure stands. The values of above-mentioned properties were the lowest in the cinnamon pure stands, while the mixed stands developed from the treatment of light cutting intensity (with a canopy closure of 0.6) had the highest values, being significantly different from those of the masson pine pure stands. The functional diversity of soil microbial communities decreased with the increase of soil depth. Principal component analysis showed that the utilization characteristics

国家自然科学基金项目(31460196)和广西林业科技项目(桂林科字[2014]第24号)资助。
收稿日期: 2017-01-05 接受日期: 2017-05-31
*通讯作者 E-mail: yshaoming@163.com

of soil microbial carbon sources were not significant among different mixed patterns but obviously different among different forest types, mainly contributed by amino acids, carboxylic acids and sugars. The differences of soil microbial carbon source utilization in different stands were significantly affected by soil water content and organic matter content. Also, other factors such as soil water content, organic matter content, total nitrogen content, total phosphorus content, total potassium content and the ratio of carbon to nitrogen had important impacts on soil microbial community functional diversity. In conclusion, the microbial activity and functional diversity of soil were improved by introducing cinnamon to grow in the masson pine stands, which would offer a reference for transforming masson pines pure forest into mixed forests.

Key words: mixed forest; canopy closure; soil microorganism; functional diversity.

土壤微生物在陆地生态系统养分循环中发挥着关键作用,它是土壤有机质周转的主要推动力(Wershaw,1983),通过代谢活动,促进土壤的形成和发育,改变土壤的理化性质,促进氮、磷、钾等物质和能量的转化(许光辉等,1991),从而改善土壤肥力。土壤微生物种群、群落结构及其功能、微生物生物量、酶活性等土壤生物学性状可以反映土壤质量、土壤肥力的演变,并可用作评价土壤健康的生物指标(Diacono *et al.*,2010),这些指标对外界环境条件诸如肥力水平、土壤类型、植被、管理措施和土壤污染等的变化十分敏感(Ma *et al.*,2005)。

土壤微生物与植被形成相互作用的反馈体系,既受到地上植被类型的影响,又通过其自身性质的改变反作用于植被(Jia *et al.*,2005;Sinha *et al.*,2009)。土壤微生物能将空气中惰性氮素转换成离子态氮素以及土壤中难溶性矿物质转换成易溶性矿质化合物供植被吸收促进其生长发育,并能通过降解无机和有机污染物,减轻污染物对植被的毒害(吴建峰等,2003)。因此,植被在土壤中不能脱离微生物而生长,特别是根际微生物和共生微生物。植被对土壤微生物的主要影响是改变土壤微生物群落特征(O'Donnell *et al.*,2001),它通过根系分泌物及一些代谢物质的释放来改变土壤的理化性质,如pH、有机质含量、土壤结构和微气候等,从而影响土壤微生物量、微生物活性、群落结构多样性和功能多样性等(Grayston *et al.*,1998;Weintraub *et al.*,2007;Aubert *et al.*,2010;Burton *et al.*,2010)。

植被类型对土壤微生物会产生不同的影响,混交林与针叶林相比,不仅有较高的植物多样性,林内环境也更有利于土壤微生物活动,加速分解过程,降低腐殖质的酸性反应,提高土壤肥力,进而促使林分获得较高的收获量(王晓峰等,2006)。研究表明,针阔混交林(许景伟等,2000;Wen *et al.*,2014)或针叶混交林(Xing *et al.*,2010;陆梅等,2011)土壤中的微生物总数量和生物量均高于针叶纯林。然而,到目前为止,关于针叶林、阔叶林的混交比例对土壤微生物多样性的影响仍未见报道,而混交比例对混交林分生产力、物种多样性、碳储量、土壤肥力等会产生重要影响(李菁等,2012;张令峰,2013)。

为探索土壤微生物群落功能多样性对不同混交比例林分的响应,本研究于2006年初营造了4种不同混交比例的马尾松肉桂人工复层林及肉桂纯林,7年后进行对比研究,研究目的:(1)探索上层郁闭度对土壤微生物功能多样性的影响;(2)不同林分类型间,土壤微生物功能多样性的差异;(3)不同郁闭度条件下,土壤微生物功能多样性随土层深度的变化。

1 研究地区与研究方法

1.1 试验地概况

本研究试验地选在中国广西壮族自治区岑溪市林业科学研究所试验林场(110°3′E—111°22′E,22°37′N—23°13′N),该区域属于典型亚热带季风气候区,年平均气温18.4~22.4 ℃,海拔在300~325 m,坡向为南坡,坡度为16°~20°。土壤类型以红壤为主,呈酸性,土壤厚度为80~90 cm,石砾含量少。林下植物种类较多,主要有海金沙(*Lygodium japonicum*)、半边旗(*Pteris semipinnata*)、铁线蕨(*Adiantum capillus-veneris*)、细齿叶柃(*Eurya nitida*)、毛算盘子(*Glochidion eriocarpum*)、粗叶榕(*Ficus simplicissima*)、杜茎山(*Maesa japonica*)、牛白藤(*Hedyotis hedytidea*)、菝葜(*Smalix china*)、弓果黍(*Cyrtococcum patens*)、蔓生莠竹(*Mcrostegium vagens*)等。

1.2 试验设计

2005年10月,选择立地条件、郁闭度(均为0.8)相同的20 a马尾松人工纯林,根据光环境调控

技术设5个不同强度进行疏伐,伐后郁闭度分别为0.4(强度采伐)、0.5(中强度采伐)、0.6(中弱度采伐)、0.7(弱度采伐)和0.0(皆伐),各郁闭度每公顷保留株数分别为:631、781、946、1097和0株,除皆伐外,各处理保留木分布均匀且平均胸径和平均树高无显著差异($P<0.05$)。试验采用随机区组设计,区组内设置大小为25.8 m×25.8 m的固定标准地,重复4次,2006年初采用同样的种植密度(1.2 m×1.4 m,5949株·hm^{-2})在采伐迹地及不同采伐强度的马尾松林下种植肉桂,形成上层郁闭度分别为0.4、0.5、0.6和0.7马尾松肉桂人工复层林(M1、M2、M3和M4)以及肉桂纯林(CP),同时设置马尾松纯林固定标准地作为对照(CK)。土壤采样时,各处理上层郁闭度基本保持不变,下层肉桂长势良好,郁闭度也均达到了0.9。

1.3 土壤取样

土壤样品于2013年9月初采集,在每个标准地内按斜对角线随机设3个采样点,分别采集0~10、10~20 cm土层的土壤样品,各点土壤采集量大体一致。来自同一标准地同一土层的土样混匀后,装入灭菌的聚乙烯袋内并封口,采用冰袋保鲜的方式带回实验室,新鲜土去掉植物残根、石砾等杂物后过2 mm筛。采样四分法将土样分成2份,一份置于4 ℃冰箱冷藏,于7 d内测定土壤微生物功能多样性,而一份风干测定土壤理化性质。

1.4 实验方法

1.4.1 土壤理化性质测定 土壤理化性质按森林土壤分析方法国家标准(GB 7830—87~GB 7857—81)进行分析,土壤含水率用质量法测定,土壤有机质(SOM)采用重铬酸钾氧化-外加热法测定,全氮(TN)测定采用半微量凯氏法,全磷(TP)含量测定采用氢氧化钠碱熔-钼锑抗比色法,全钾(TK)含量测定采用氢氧化钠碱熔-火焰光度计法。

1.4.2 土壤微生物功能多样性测定 本研究采用BIOLOG-EOC微平板法分析土壤微生物功能多样性(姚槐应,2006),BIOLOG方法与传统的微生物培养方法相比,不仅无需分离培养纯种微生物,而且反应灵敏度高、分辨能力强、测定方法更简便,是一种监测土壤微生物群落结构变化的快捷并可靠的方法。BIOLOG具体操作步骤:取相当于10 g烘干土的鲜土加入90 mL灭菌的生理盐水(0.145 mol·L^{-1})中,于摇床振荡器上以200 r·min^{-1}的速率振荡30 min后,静置,然后稀释至10^{-3},取150 μL上清液接种到生态板的每一个孔中,放置到25 ℃恒温箱培养,每隔24 h用酶标仪(1500,American Thermo)在590 nm波长下读数,培养时间为7 d。

1.5 数据处理

微平板孔中溶液吸光值平均颜色变化率AWCD(Garland *et al.*,1991)用来描述土壤微生物代谢活性,计算公式如下:

$$AWCD = \sum (C_i - R_i)/n$$

式中,C_i为每个有培养基孔的吸光值,R_i为对照孔的吸光值,n为培养基孔数。分别用Shannon指数表征土壤微生物物种的丰富度、Simpson指数表征最常见物种的优势度以及McIntosh指数表征物种的均匀度,计算公式都参照杨永华等(2000)。

所有数据的统计分析都在SPSS 21.0统计软件中进行。用单因子方差分析(one-way ANOVA)和主成分分析(principal component analysis,PCA)确定不同处理间土壤微生物群落碳代谢特征是否有显著差异,利用Pearson相关系数分析不同因子间的相关关系。统计数据均采用均值±标准误表示。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质

全部处理的土壤平均含水率介于(17.01±0.36)%~(23.02±1.06)%(表1)。在0~10、10~20 cm土层,4种复层林土壤SOM、TN、TP、TK平均含量较CK分别增加了4.72%、12.81%、19.57%、10.19%和15.94%、12.95%、21.59%、10.34%,但差异不显著($P>0.05$;表1)。相反,肉桂纯林土壤的SOM、TN、TP、TK的含量较CK有所下降,0~10 cm土层的降幅分别为66.80%、36.25%、21.74%、16.30%,10~20 cm土层的降幅分别为62.25%、21.43%、22.73%、26.90%。肉桂纯林的碳氮比最低,其他各处理的碳氮比与CK无显著差异。相同处理不同深度土层SOM、TN、TP、TK含量总体表现为0~10 cm>10~20 cm,即土层深度的增加,土壤养分含量减少。

2.2 土壤微生物碳源代谢活性特征

平均颜色变化率AWCD反映了土壤微生物利用碳源的能力和代谢活性的大小,其值越高,土壤中微生物群落碳源代谢活性也就越高(Zabinski *et al.*,1997;Konopka *et al.*,1998)。不同处理不同土层的AWCD值变化如图1,结果表明:0~10和10~20 cm两层的AWCD值均随着培养时间的延长而提高,在

表 1 不同混交处理土壤理化性质

Table 1 Soil physical-chemical properties of different treatments

处理	上层郁闭度	土层(cm)	含水量(%)	有机质(g·kg^{-1})	全氮(g·kg^{-1})	全磷(g·kg^{-1})	全钾(g·kg^{-1})	C/N
CP	0	0~10	17.64±0.55 c	11.27±1.30 b	0.51±0.07 a	0.18±0.08 a	1.13±0.36 a	13.66±1.73 a
		10~20	17.01±0.36 c	8.32±1.06 b	0.44±0.08 a	0.17±0.09 a	1.06±0.16 a	12.48±2.37 a
M1	0.4	0~10	23.02±1.06 a	35.95±4.62 a	1.05±0.12 a	0.27±0.04 a	1.61±0.21 a	20.45±1.17 a
		10~20	21.21±0.53 ab	25.90±3.30 a	0.72±0.15 a	0.25±0.03 a	1.46±0.07 a	22.49±1.54 a
M2	0.5	0~10	22.35±0.57 a	36.66±1.92 a	0.86±0.10 a	0.29±0.03 a	1.39±0.07 a	26.19±2.53 a
		10~20	21.32±0.28 ab	28.03±1.72 a	0.58±0.07 a	0.26±0.02 a	1.48±0.12 a	30.00±3.86 a
M3	0.6	0~10	22.19±0.77 ab	35.32±2.92 a	0.81±0.12 a	0.24±0.03 a	1.44±0.13 a	26.99±2.44 a
		10~20	21.35±0.62 ab	25.27±1.64 a	0.66±0.08 a	0.24±0.03 a	1.47±0.11 a	23.32±1.70 a
M4	0.7	0~10	21.25±0.42 ab	34.28±3.33 a	0.89±0.18 a	0.30±0.04 a	1.51±0.20 a	23.03±2.93 a
		10~20	20.62±0.57 b	23.29±2.22 a	0.57±0.10 a	0.32±0.07 a	1.99±0.63 a	25.64±3.11 a
CK	0.8	0~10	21.72±0.41 ab	33.95±5.24 a	0.80±0.21 a	0.23±0.03 a	1.35±0.38 a	25.13±7.86 a
		10~20	22.11±0.32 ab	22.10±1.05 a	0.56±0.15 a	0.22±0.03 a	1.45±0.11 a	21.02±3.74 a

CP:肉桂纯林;M1:上层郁闭度为 0.4 马尾松肉桂人工复层林;M2:上层郁闭度为 0.5 马尾松肉桂人工复层林;M3:上层郁闭度为 0.6 马尾松肉桂人工复层林;M4:上层郁闭度为 0.7 马尾松肉桂人工复层林;CK:对照马尾松纯林。不同小写字母表示同一土层不同处理差异显著(P<0.05)。下同。

培养起始的 24 h 各个处理的 AWCD 值的变化速率都很小,培养 24 h 后 AWCD 进入快速增长期,直至 96 h,此时微生物具有旺盛的代谢活性,碳源明显被利用,随后 AWCD 增长变化速率减缓,并逐渐趋于稳定。

由图 1 可见,不同处理的土壤微生物对碳源利用程度存在一定的差异,4种混交处理的碳源利用程度均高于对照马尾松纯林,而肉桂纯林最低。具体表现为:0~10 cm 土层为 M3>M2>M4≈M1>CK>CP;10~20 cm 土层则为 M3>M4≈M1>M2>CK>CP;M3 在 0~10、10~20 cm 土层土壤微生物的碳源利用程度均为最高,CP 最低,且 M3 与 CK、CP 差异显著(P<0.05)。除 CP 外,0~96 h 快速增长期各处理的 AWCD 值都表现为 0~10 cm>10~20 cm,进入平稳期后各处理的两层 AWCD 值较为接近。

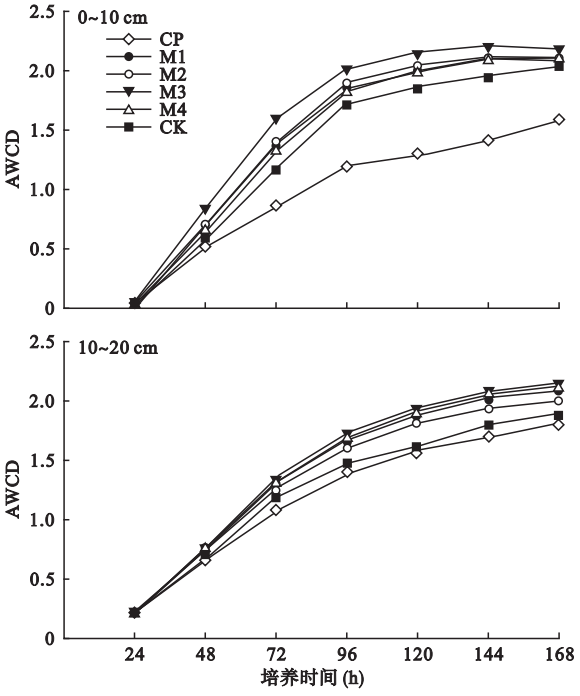


图 1 不同处理和土壤深度土壤微生物群落 AWCD 随时间的变化

Fig.1 Changes of soil average well color development of soil microbial community with time in defferent treatments and soil depths

2.3 土壤微生物群落功能多样性

根据碳源总体活性变化特征,选取变化趋势趋于平稳培养 96 h 的吸光值计算 Shannon 指数、Simpson 指数、McIntosh 指数。从表 2 可以看出,4 种混交复层林 0~10 和 10~20 cm 土壤微生物群落的 Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数均高于 CK,且部分指数与 CK 呈显著差异(P<0.05);而 CP 的 Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数都低于 CK。可见试验所营造的各种模式马尾松肉桂人工复层林都在不同程度上提高了土壤微生物代谢功能多样性,其中 M3 0~10 和 10~20 cm 土层土壤微生物群落的 Shannon 指数、Simpson 指数、McIntosh 指数都高于其他处理,且与 CK、CP 的差异均达到了显著性水平(P<0.05)。其他 3 个混交处理中,M4 0~10 cm土层土壤微生物群落 Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数均最低,仅与 CP 差异显著(P<0.05);10~20 cm 土层土壤微生物群落 Shannon 指数和 Simpson 指数 M1 最低,McIntosh 指数 M2 最低。相同处理不同土层的土壤微生物群落 Shannon 指数和McIntosh指数表现为0~10 cm>10~20 cm;

表2 不同处理土壤微生物群落功能多样性指数

Table 2 Diversity indices for soil microbial communities of different treatments

土层(cm)	处理	平均颜色变化率 AWCD	丰富度指数	优势度指数	均匀度指数
0~10	CP	1.19±0.06 c	3.24±0.01 c	0.958±0.000 c	7.62±0.27 b
	M1	1.84±0.03 ab	3.29±0.02 abc	0.961±0.001 ab	11.41±0.16 a
	M2	1.90±0.05 ab	3.31±0.02 b	0.962±0.001 a	11.47±0.24 a
	M3	1.98±0.11 a	3.31±0.02 b	0.962±0.001 a	11.97±0.53 a
	M4	1.84±0.12 ab	3.28±0.02 abc	0.960±0.001 ab	11.39±0.61 a
	CK	1.73±0.06 b	3.25±0.01 c	0.959±0.000 bc	10.85±0.27 a
10~20	CP	1.39±0.05 b	3.24±0.01 c	0.959±0.000 c	8.77±0.23 c
	M1	1.66±0.06 ac	3.27±0.01 abc	0.960±0.000 abc	10.29±0.32 ab
	M2	1.61±0.08 abc	3.29±0.01 ab	0.961±0.001 ab	9.84±0.48 abc
	M3	1.76±0.09 a	3.29±0.02 a	0.961±0.001 ab	10.73±0.44 a
	M4	1.66±0.09 ac	3.26±0.02 ab	0.961±0.001 ab	10.19±0.45 ab
	CK	1.47±0.06 bc	3.25±0.01 bc	0.959±0.000 c	9.26±0.27 bc

两个土层 Simpson 指数较为接近。

2.4 主成分分析

利用培养 96 h 的 AWCD 值进行主成分分析(PCA),按照主成分提取的一般原则(郝黎仁等,2003),在 31 个因子中提取特征根大于 1 的主成分,0~10 cm 土层提取的 6 个主成分累计贡献率为 86.39%,10~20 cm 土层提取的 7 个主成分累计贡献率为 89.91%。其中,0~10 cm 土层的第 1~6 主成分(PC1~PC6)的贡献率分别为 45.66%、19.01%、7.68%、5.73%、4.84%和 3.47%;10~20 cm 土层的第 1~7 主成分(PC1~PC7)的贡献率分别为 47.35%、15.41%、8.35%、6.27%、4.93%、4.06%和 3.54%。对方差贡献率超过 10%的两个主成分 PC1 和 PC2 进一步分析发现(图 2):M1、M2、M3 和 M4 的 0~10、10~20 cm 均位于 PC1 的正方向,得分系数在 0~1.13之间;CP 的 2 个土层均位于 PC1 负方向;CK 的 2 个土层均位于 PC2 负方向。整体看来,微生物群落代谢多样性类型在不同上层郁闭度的马尾松肉桂人工复层林之间存在分异但较小,但复层林与马尾松纯林、肉桂纯林空间分异明显。可见,PC1 和 PC2 基本上能区分不同林分类型土壤微生物的群落特征。

初始载荷因子反映碳源利用与主成分的相关系数,载荷因子越高,表示该碳源对主成分的影响越大(时鹏等,2010)。与 0~10 和 10~20 cm 土层中 PC1、PC2 具有较高相关性的碳源见表 3,对 0~10 cm 土层的两个主成分起分异作用的主要是氨基酸类、羧酸类、胺类和糖类,而 10~20 cm 土层则主要是氨基酸类、羧酸类、酯类和糖类。本文以 0~10 cm 土层为例,对不同处理起主要作用的前 5 种碳源亦进行了分析(表 4)。不同处理的土壤微生物虽然利用的主要都是氨基酸类、羧酸类、胺类、糖类以及少量其他物质,但处理之间共同点并不多,不同林分土壤微生物碳源利用的情况出现了分异。

2.5 微生物碳源利用主因子、多样性指标与土壤养分因子之间的相关性

主成分因子、微生物群落多样性指标与土壤理化性质相关性分析结果表明(表 5):PC1、PC2 与土壤养分因子部分正相关,部分负相关;而AWCD、

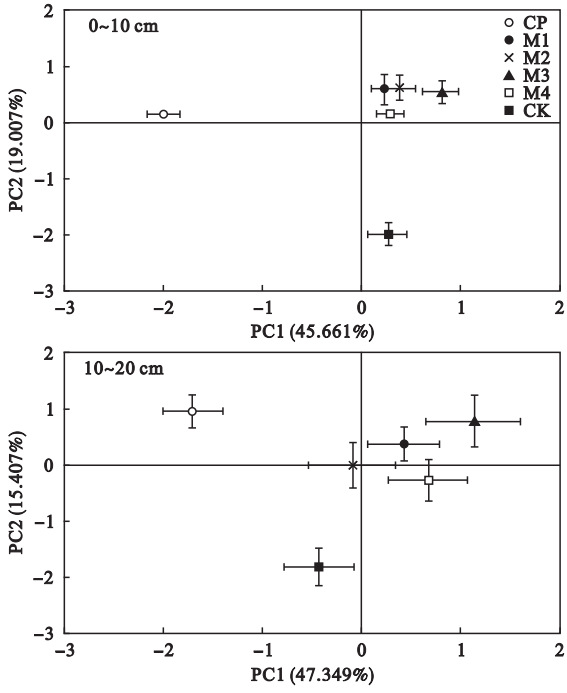


图2 不同处理不同土层土壤微生物群落碳代谢主成分(PCA)分析

Fig.2 Principal component analysis for carbon utilization of soil microbial communities in defferent treatments and soil depths

表 3 BIOLOG-ECO 板碳源在 PC1 和 PC2 上的载荷值(r>0.6)
Table 3 Correlation analysis of different carbon source utilization with PC1 and PC2 (r>0.6)

0~10 cm			10~20 cm		
主成分	碳源	r	主成分	碳源	r
PC1	氨基酸类 Amino acids		PC1	氨基酸类 Amino acids	
	L-Threonine	0.958		L-Serine	0.923
	L-Arginine	0.922		L-Phenylalanine	0.847
	L-Phenylalanine	0.892		L-Arginine	0.814
	L-Serine	0.780		L-Threonine	0.794
	L-Asparagine	0.624		Glycyl-L-Glutamic Acid	0.741
	羧酸类 Carboxylic acids			羧酸类 Carboxylic acids	
	2-Hydroxy Benzoic Acid	0.914		2-Hydroxy Benzoic Acid	0.930
	D-Glucosaminic Acid	0.895		4-Hydroxy Benzoic Acid	0.877
	Itaconic Acid	0.793		Itaconic Acid	0.854
	4-Hydroxy Benzoic Acid	0.780		D-Glucosaminic Acid	0.849
	α-Ketobutyric Acid	0.730		D-Galacturonic Acid	0.764
	胺类 Amines			酯类 Esters	
	N-Acetyl-D-Glucosamine	0.857		Tween 40	0.943
	Phenylethyl-amine	0.844		Tween 80	0.915
	Putrescine	0.743		Pyruvic Acid Methyl Ester	0.791
	酯类 Esters			胺类 Amines	
	D-Galactonic Acid-Lactone	0.835		Phenylethyl-amine	0.796
	Pyruvic Acid Methyl Ester	0.756		Putrescine	0.727
	Tween 80	0.654		醇类 Acohols	
	糖类 Carbohydrates			D,L-a-Glycerol Phosphate	0.862
	D-Cellobiose	0.809		D-Mannitol	0.746
	Glucose-1-Phosphate	0.681		糖类 Carbohydrates	
	醇类 Acohols			D-Cellobiose	0.896
	D-Mannitol	0.860	PC2	羧酸类 Carboxylic acids	
PC2	氨基酸类 Amino acids			D-Malic Acid	0.685
	Glycyl-L-Glutamic Acid	0.846		γ-Hydroxybutyric Acid	0.678
	糖类 Carbohydrates			糖类 Carbohydrates	
	α-D-Lactose	0.836		α-D-Lactose	0.825
	β-Methyl-D-Glucoside	0.711		D-Xylose	0.685
				胺类 Amines	
				N-Acetyl-D-Glucosamine	0.770

Shannon 指数、Simpson 指数、McIntosh 指数与土壤养分因子均呈正相关关系。其中:0~10 cm 土层 PC1 与土壤含水量、有机质、碳氮比显著正相关;AWCD 及 McIntosh 指数与土壤含水量、有机质、全氮、全磷、全钾、碳氮比显著正相关;Simpson 指数与含水量、有机质显著正相关。10~20 cm 土层的 PC1 与土壤有机质显著正相关;Shannon 指数与有机质、碳氮比显著正相关;Simpson 指数与土壤碳氮比呈显著正相关。

3 讨 论

土壤微生物碳代谢活性是评价土壤质量的重要指标,而植被类型对土壤微生物群落有着极大的影响(Zak *et al.*,2003;Monson *et al.*,2006)。长期种植马尾松纯林会引起地力衰退、酸性物质累积、微生物数量、质量下降,活性减少等生态问题(盛炜彤,1992;翟明普,1993;Xu *et al.*,2002)。本研究发现,在马尾松林下种植阔叶树土壤微生物活性(AWCD)和功能多样性的 Shannon 指数、Simpson 指数、McIntosh 指数均表现为:复层林>马尾松纯林>肉桂纯林,说明混交林有利于保持土壤微生物多样性。植被的类型、数量和化学组成可能是土壤生物多样性变化的主要驱动因子(Waid,1999)。本研究还发现,在马尾松林下套种阔叶树可显著增加林下表层(0~20 cm)土壤的有机质、全氮和全磷含量,微生物功能多样性指数与土壤各养分指标均呈正相关关系(表 5),可见在马尾松林下种植肉桂后土壤养分含量的增加可提高土壤微生物群落功能多样性,这可能与

表4 各处理主成分的主要作用碳源

Table 4 Main carbon substrates utilized by microbial communities in different treatments

处理	PC1	PC2
CP	N-Acetyl-D-Glucosamine(胺类 Amines)	α-D-Lactose (糖类 Carbohydrates)
	L-Asparagine(氨基酸类 Amino acids)	2-Hydroxy Benzoic Acid (羧酸类 Carboxylic acids)
	D,L-a-Glycerol Phosphate(醇类 Acohols)	i-Erythritol(醇类 Acohols)
	4-Hydroxy Benzoic Acid(羧酸类 Carboxylic acids)	α-Ketobutyric Acid (羧酸类 Carboxylic acids)
	L-Serine(氨基酸类 Amino acids)	L-Threonine (氨基酸类 Amino acids)
M1	Glucose-1-Phosphate (糖类 Carbohydrates)	α-D-Lactose (糖类 Carbohydrates)
	Pyruvic Acid Methyl Ester (酯类 Esters)	γ-Hydroxybutyric Acid (羧酸类 Carboxylic acids)
	D-Galactonic Acid-Lactone (酯类 Esters)	α-Ketobutyric Acid (羧酸类 Carboxylic acids)
	Putrescine (胺类 Amines)	L-Serine (氨基酸类 Amino acids)
	Tween 80 (酯类 Esters)	i-Erythritol(醇类 Acohols)
M2	α-Ketobutyric Acid (羧酸类 Carboxylic acids)	Glycyl-L-Glutamic Acid (氨基酸类 Amino acids)
	Glucose-1-Phosphate (糖类 Carbohydrates)	2-Hydroxy Benzoic Acid (羧酸类 Carboxylic acids)
	L-Threonine (氨基酸类 Amino acids)	Glycogen (糖类 Carbohydrates)
	D-Mannitol (醇类 Acohols)	i-Erythritol(醇类 Acohols)
	L-Serine (氨基酸类 Amino acids)	Itaconic Acid (羧酸类 Carboxylic acids)
M3	N-Acetyl-D-Glucosamine (胺类 Amines)	L-Phenylalanine (氨基酸类 Amino acids)
	D-Mannitol (醇类 Acohols)	Phenylethyl-amine (胺类 Amines)
	D-Cellobiose(糖类 Carbohydrates)	L-Arginine (氨基酸类 Amino acids)
	Glucose-1-Phosphate (糖类 Carbohydrates)	Glycyl-L-Glutamic Acid (氨基酸类 Amino acids)
	L-Asparagine (氨基酸类 Amino acids)	β-Methyl-D-Glucoside (糖类 Carbohydrates)
M4	D-Cellobiose(糖类 Carbohydrates)	Pyruvic Acid Methyl Ester (酯类 Esters)
	2-Hydroxy Benzoic Acid (羧酸类 Carboxylic acids)	D-Cellobiose(糖类 Carbohydrates)
	L-Phenylalanine (氨基酸类 Amino acids)	L-Phenylalanine (氨基酸类 Amino acids)
	D-Glucosaminic Acid (羧酸类 Carboxylic acids)	Glucose-1-Phosphate (糖类 Carbohydrates)
	L-Arginine (氨基酸类 Amino acids)	2-Hydroxy Benzoic Acid (羧酸类 Carboxylic acids)
CK	Glucose-1-Phosphate(糖类 Carbohydrates)	γ-Hydroxybutyric Acid (羧酸类 Carboxylic acids)
	Pyruvic Acid Methyl Ester(酯类 Esters)	Itaconic Acid (羧酸类 Carboxylic acids)
	L-Threonine(氨基酸类 Amino acids)	L-Serine (氨基酸类 Amino acids)
	2-Hydroxy Benzoic Acid(羧酸类 Carboxylic acids)	β-Methyl-D-Glucoside (糖类 Carbohydrates)
	Putrescine(胺类 Amines)	D-Xylose (糖类 Carbohydrates)

表5 微生物碳源利用主因子、多样性指数与土壤理化性质的相关性

Table 5 Correlation coefficients of principal factors and microbial community functional diversity with soil characteristics

土层(cm)	主因子和指数	含水量	有机质	全氮	全磷	全钾	C/N
0~10	PC1	0.930**	0.975**	0.786	0.770	0.776	0.887*
	PC2	0.076	0.005	0.167	0.252	0.241	−0.187
	AWCD	0.933**	0.967**	0.814*	0.821*	0.813*	0.837*
	Shannon 指数	0.700	0.674	0.581	0.641	0.598	0.592
	Simpson 指数	0.812*	0.812*	0.666	0.709	0.659	0.727
	McIntosh 指数	0.939**	0.979**	0.828*	0.825*	0.825*	0.840*
10~20	PC1	0.716	0.816*	0.639	0.620	0.708	0.721
	PC2	−0.588	−0.272	−0.461	−0.398	−0.336	−0.154
	AWCD	0.582	0.777	0.519	0.517	0.587	0.723
	Shannon 指数	0.578	0.828*	0.350	0.621	0.634	0.901**
	Simpson 指数	0.482	0.766	0.275	0.524	0.542	0.852*
	McIntosh 指数	0.596	0.772	0.561	0.512	0.586	0.692

* $P<0.05$; ** $P<0.01$。

混交林能增加森林凋落物(张家武,1993;樊后保,2005;樊后保,2006;Wen,2014),且不同树种凋落物输入到土壤的有机物质组成和根系分泌物质不同有关(Karoline *et al.*,2015)。

在不同上层郁闭度的马尾松肉桂复层林处理之间,上层郁闭度为 0.6 的各个土壤微生物功能多样性指标均高于其他 3 个处理,上层郁闭度为 0.4、0.5、0.7 基本相近,说明对中弱度疏伐的马尾松林混种肉桂形成的人工复层林对提高土壤微生物多样性效果相对较好。我们前期研究也发现(陶大燕等,2015;Tao *et al.*,2015),上层郁闭度为 0.6 的复层林中,肉桂生物量最大,肉桂精油的总得油率和肉桂醛的含量最高,说明中度遮阴有利于肉桂的生长,也间接说明中度遮阴有利于提高土壤微生物的活性和群落功能多样性。郑丽凤等(2009)亦发现,中弱度择伐能显著提高土壤养分有机质、全氮、全磷,这可能是因为冠层结构影响林下光照环境 ,进而影响到凋落物分解、土壤温度和水分状况,而这些环境因子在空间上的差异则直接作用于土壤养分和微生物群落。

土壤微生物功能多样性各指数和土壤养分含量总体呈现随土层深度的增加而递减的规律,其他研究者也报道了相似的研究结果(吴则焰等,2013;Chen *et al.*,2015),均认为土壤养分含量、土壤湿度等因子随土层深度变化而变化,从而影响土壤微生物活性和群落功能多样性。土壤表层为腐殖质层,具有较多的凋落物,土壤养分含量高,通风性和水热条件良好,十分有利于土壤微生物的生长。随着土壤深度的增加,土壤容重增大,孔隙度减小,营养成分持续下降,植被根系分布逐渐减少(燕辉等,2010),土壤水、热、气等生态因子逐渐不适合土壤微生物生存和生长,土壤微生物的正常活动受到了一定影响,其种类和数量随着土层的加深逐渐降低。

本研究对土壤微生物碳源代谢活性 PCA 贡献率较高的前 2 个主成分进行了分析,结果表明复层林、马尾松纯林和肉桂纯林的土壤微生物群落代谢多样性存在明显分异,而 4 种处理的复层林之间分异较小,在主成分分离中起主要贡献作用的碳源是氨基酸类、羧酸类和糖类(表 3),但作用于不同处理微生物的氨基酸类、羧酸类和糖类各不相同(表 4),可作为区分各处理对微生物影响的依据(Ekkehard *et al.*,1997;罗希茜等,2009)。PCA 排序结果发现(表 3),大部分碳源都与第一主成分呈正相关,说明第一主成分与土壤微生物功能多样性呈正相关;通过与土壤养分因子进行相关分析,结果也表明,PCA 的第一主成分与土壤有机碳含量有密切关系(表 5)。

4 结 论

营造针阔混交林是人们常用来避免针叶纯林引起的地力衰退、抗灾害能力减弱等问题的重要手段,而混交模式也影响着人工林生态环境的修复效果。本研究对马尾松林进行不同强度的采伐(强度、中强度、中弱度、弱度和皆伐)后,营建了上层郁闭度分别为 0.4、0.5、0.6、0.7 马尾松肉桂人工复层林及肉桂纯林,探索土壤微生物多样性对不同混交比例的响应。除皆伐外,基于其他 4 种采伐强度而建的混交林均提高了土壤微生物的碳源利用率、土壤微生物群落功能多样性及其土壤养分含量,其中基于中弱度采伐而建的混交林对提高土壤微生物群落功能多样性效果明显。所有处理中,无论是土壤微生物群落功能多样性还是土壤养分含量均随土层深度增加而减少,且土壤养分含量对土壤微生物功能多样性有着重要影响。

参考文献

樊后保, 李燕燕, 黄玉梓, 等. 2006. 马尾松纯林改造成针阔混交林后土壤化学性质的变化. 水土保持学报, **20**(4): 77-81.

樊后保, 李燕燕, 孙 新, 等. 2005. 马尾松纯林及其与阔叶树混交林的凋落量与养分通量. 应用与环境生物学报, **11**(5): 3-9.

郝黎仁, 樊 元, 郝哲欧, 等. 2003. SPSS 实用统计分析. 北京: 中国水利水电出版社.

李 菁, 骆有庆, 石 娟. 2012. 基于生物多样性保护的兴安落叶松与白桦最佳混交比例——以阿尔山林区为例. 生态学报, **32**(16): 4943-4949.

陆 梅, 卫 捷, 韩智亮. 2011. 滇池西岸 4 种针叶林的土壤微生物与酶活性. 东北林业大学学报, **39**(6): 56-59.

罗希茜, 郝晓晖, 陈 涛, 等. 2009. 长期不同施肥对稻田土壤微生物群落功能多样性的影响. 生态学报, **29**(2): 740-748.

盛炜彤. 1992. 人工林地力衰退研究. 北京: 中国科学技术出版社.

时 鹏, 高 强, 王淑平, 等. 2010. 玉米连作及其施肥对土壤微生物群落功能多样性的影响. 生态学报, **30**(22): 6173-6182.

陶大燕, 罗叶红, 姚贤宇, 等. 2015. 上层冠层因子对马尾松肉桂复层林下层林分生物量的影响. 广西林业科学, **44**(1): 12-17.

王晓峰, 唐彦民, 鲁少军. 2006. 关于混交林与纯林的比较优势分析. 防护林科技, (5): 63-64.

吴建峰, 林先贵. 2003. 土壤微生物在促进植物生长方面的作用. 土壤, **35**(1): 18-21.

吴则焰, 林文雄, 陈志芳, 等. 2013. 中亚热带森林土壤微生物群落多样性随海拔梯度的变化. 植物生态学报, **37**(5): 397-406.

许光辉, 李振高. 1991. 微生物生态学. 南京: 东南大学出版社.
许景伟, 王卫东, 李 成. 2000. 不同类型黑松混交林土壤微生物、酶及其与土壤养分关系的研究. 北京林业大学, **22**(1): 51-55.
燕 辉, 刘广全, 李红生. 2010. 青杨人工林根系生物量、表面积和根长密度变化. 应用生态学报, **21**(11): 2763-2768.
杨永华, 姚 健, 华晓梅. 2000. 农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响. 微生物学杂志, **20**(2): 23-25.
姚槐应. 2006. 土壤微生物生态学及其实验技术. 北京: 科学出版社.
翟明普. 1993. 混交林和树种间关系的研究现状. 世界林业研究, (1): 39-45.
张家武, 廖利平, 李锦芳, 等. 1993. 马尾松火力楠混交林凋落物动态及其对土壤养分的影响. 应用生态学报, **4**(4): 359-363.
张令峰. 2013. 不同混交比例马尾松林生态功能比较研究(博士学位论文). 合肥: 安徽农业大学.
郑丽凤, 周新年, 巫志龙. 2009. 土壤理化性质在不同强度采伐干扰下的响应及其评价. 福建林学院学报, **29**(3): 199-202.
Aubert M, Margerie P, Trap J, *et al*. 2010. Aboveground-belowground relationships in temperate forests: Plant litter composes and microbiota orchestrates. *Forest Ecology and Management*, **259**: 563-572.
Burton J, Chen C, Xu Z, *et al*. 2010. Soil microbial biomass, activity and community composition in adjacent native and plantation forests of subtropical Australia. *Journal of Soils and Sediments*, **10**: 1267-1277.
Chen X, Wang D, Chen X, *et al*. 2015. Soil microbial functional diversity and biomass as affected by different thinning intensities in a Chinese fir plantation. *Applied Soil Ecology*, **92**: 35-44.
Diacono M, Montemurro F. 2010. Long-term effects of organic amendments on soil fertility: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, **30**: 401-422.
Ekkehard G, Holger H, Bert E, *et al*. 1997. Statistical comparisons of community catabolic profiles. *Journal of Microbiological Methods*, **30**: 71-80.
Garland JL, Mills AL. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, **57**: 2351-2359.
Grayston SJ, Wang S, Campbell CD, *et al*. 1998. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, **30**: 369-378.
Jia G, Cao J, Wang C, *et al*. 2005. Microbial biomass and nutrients in soil at the different stages of secondary forest succession in Ziwulin, northwest China. *Forest Ecology and Management*, **217**: 117-125.
Konopka A, Oliver L, Turco JRF, 1998. The use of carbon source utilization patterns in environmental and ecological microbiology. *Microbial Ecology*, **35**: 103-115.
Ma WK, Siciliano SD, Germida JJ. 2005. A PCR-DGGE method for detecting arbuscular mycorrhizal fungi in cultivated soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **37**: 1589-1597.
Monson RK, Lipson DL, Burns SP, *et al*. 2006. Winter forest soil respiration controlled by climate and microbial community composition. *Nature*, **439**: 711-714.
O'Donnell A, Seasman M, Macrae A, *et al*. 2001. Plants and fertilisers as drivers of change in microbial community structure and function in soils. *Plant and Soil*, **232**: 135-145.
Sinha S, Masto RE, Ram LC, *et al*. 2009. Rhizosphere soil microbial index of tree species in a coal mining ecosystem. *Soil Biology & Biochemistry*, **41**: 1824-1832.
Tao D, Li Y, Lu D, *et al*. 2015. The essential oil components of Cinnamomum cassia: An analysis under different thinning models of plantation *Pinus massoniana*. *Forest Research*, **27**: 707-717.
Waid JS. 1999. Does soil biodiversity depend upon metabiotic activity and influences? *Applied Soil Ecology*, **13**: 151-158.
Weintraub M, Scott-Denton L, Schmidt S, *et al*. 2007. The effects of tree rhizodeposition on soil exoenzyme activity, dissolved organic carbon, and nutrient availability in a subalpine forest ecosystem. *Oecologia*, **154**: 327-338.
Wen L, Lei P, Xiang W, *et al*. 2014. Soil microbial biomass carbon and nitrogen in pure and mixed stands of *Pinus massoniana* and *Cinnamomum camphora* differing in stand age. *Forest Ecology and Management*, **328**: 150-158.
Wershaw RL. 1983. Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions. New York: Wiley-Interscience.
Xing S, Chen C, Zhou B, *et al*. 2010. Soil soluble organic nitrogen and active microbial characteristics under adjacent coniferous and broadleaf plantation forests. *Journal of Soils and Sediments*, **10**: 748-757.
Xu XN, Hirata E. 2002. Forest floor mass and litterfall in *Pinus luchuensis* plantations with and without broad-leaved trees. *Forest Ecology and Management*, **157**: 165-173.
Zabinski CA, Gannon JE. 1997. Effects of recreational impacts on soil bacteria communities. *Environmental Management*, **21**: 233-238.
Zak DR, Holms WE, White DC, *et al*. 2003. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: Are there any links? *Ecology*, **84**: 2042-2050.

作者简介 喻素芳,女,1978年生,副教授,主要从事森林经理,森林生态研究。E-mail: 6195149@qq.com
责任编辑 张 敏