

亚热带两种森林土壤担子菌漆酶基因多样性比较*

陈香碧^{1,2,3} 苏以荣^{1,3**} 何寻阳^{1,3} 胡乐宁^{1,2,3} 梁月明¹ 冯书珍¹ 葛云辉¹ 肖伟¹

(¹中国科学院亚热带农业生态研究所亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙 410125; ²中国科学院研究生院, 北京 100039;

³中国科学院环江喀斯特农业生态试验站, 广西环江 547100)

摘要 漆酶是降解森林凋落物中木质素的关键酶之一, 直接影响着森林生态系统碳循环过程. 运用TA克隆、测序技术, 研究了两种亚热带森林(原生常绿落叶阔叶混交林和人工马尾松林)凋落物层(O层)和土壤表层(A层, 0~20 cm)降解木质素的担子菌漆酶基因多样性. 结果表明: 同一土壤层位, 原生林土壤中担子菌漆酶基因多样性和种群丰富度高于马尾松林; 同一森林生态系统, 原生林土壤O层中担子菌漆酶基因多样性和种群丰富度略高于土壤A层, 而马尾松林则O层明显低于A层; 两森林土壤具有相同含漆酶基因的担子菌优势种群, 且大部分优势种群与伞菌目小菇属或侧耳属有较高的氨基酸相似性; 与原生林土壤A层和马尾松林土壤O层相比, 原生林土壤O层和马尾松林土壤A层中含漆酶基因的担子菌种群分布相对均匀; 马尾松林O层与A层之间漆酶基因核苷酸序列的相似性较原生林土壤O层与A层之间的高. 表明植被和土壤层位显著影响漆酶基因多样性和群落结构, 而植被和土壤层位引起的担子菌可利用底物和土壤pH值的差异可能直接驱动这种影响.

关键词 漆酶 森林生态系统 基因多样性 TA克隆 植被

文章编号 1001-9332(2011)10-2699-06 **中图分类号** Q142.3, Q938.1 **文献标识码** A

Basidiomycetous laccase gene diversity in two subtropical forest soils. CHEN Xiang-bi^{1,2,3}, SU Yi-rong^{1,3}, HE Xun-yang^{1,3}, HU Le-ning^{1,2,3}, LIANG Yue-ming¹, FENG Shu-zhen¹, GE Yun-hui¹, XIAO Wei¹ (¹Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China; ²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; ³Huanjiang Observation and Research Station for Karst Eco-systems, Chinese Academy of Sciences, Huanjiang 547100, Guangxi, China). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2011, 22(10): 2699-2704.

Abstract: As one of the key enzymes involved in lignin decomposition of forest litter, laccase plays an important role in the carbon cycling in forest ecosystem. By using TA cloning and sequencing, a comparative study was conducted on the basidiomycetous laccase gene diversity in the O horizon (litter layer) and A horizon (surface soil layer, 0-20 cm) in two subtropical forests (a primeval evergreen deciduous broadleaved mixed forest and an artificial masson pine forest). For the same soil horizons, the basidiomycetous laccase gene diversity and richness were higher in the primeval forest than in the masson pine forest; for the same forest ecosystems, the basidiomycetous laccase gene diversity and richness in the primeval forest were slightly higher in O horizon than in A horizon, but those in the masson pine forest were apparently lower in O horizon than in A horizon. The two forest soils had the same dominant laccase gene-containing basidiomycetous populations, and most of the populations had high similarity of amino acid sequence to *Mycena* sp. or *Pleurotus* sp. belonging to Agaricales. Comparing with the A horizon in primeval forest and the O horizon in masson pine forest, the O horizon in primeval forest and the A horizon in masson pine forest had a relatively uniform distribution of basidiomycetous populations. The nucleotide sequence similarity of basidiomycetous laccase gene between the O and A horizons in the masson pine forest was higher than that in the primeval forest. This study showed that vegetation and soil horizon had significant effects

* 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-YW-436, KZCX2-YW-JC403)、中国科学院战略性先导科技专项(XDA05070403)和国家自然科学基金项目(30970538)资助.

** 通讯作者. E-mail: yrsu@isa.ac.cn

2011-02-23 收稿, 2011-07-12 接受.

on the basidiomycetous laccase gene diversity and community structure, and the discrepancies in the substrate availability for basidiomycetes and in the soil pH induced by the vegetation and soil horizon could be the driving forces.

Key words: laccase; forest ecosystem; gene diversity; TA cloning; vegetation.

森林维持着大量的碳库(约占全球植被碳库的86%以上)^[1]. 森林生态系统中有机碳通过凋落物分解作用而成为碳源^[2], 且这一碳源占凋落物碳的80%^[3]. Raich 等^[4]估计全球因凋落物分解释放的CO₂量为68 Gt C · a⁻¹. 因此, 凋落物的分解在调节全球碳平衡、缓解大气中CO₂等温室气体浓度上升等方面具有不可替代的作用^[5].

土壤中的微生物承担着生态系统中90%以上有机物质的矿化作用, 是森林生态系统生物元素循环和能量流动的积极参与者^[6]. 凋落物中, 由苯丙烷单元构成的木质素是具有三围网状结构的复杂天然大分子, 不易降解^[7], 其含量是影响凋落物降解过程的关键因子^[8]. 真菌分泌的漆酶能彻底分解木质素为CO₂和水^[9], 是重要的木质素降解酶之一. 漆酶广泛存在于自然界多种植物和真菌中, 且分泌漆酶的真菌主要属于担子菌门^[10]. 目前, 有关森林土壤漆酶基因多样性的研究已成为国际土壤微生物研究的热点之一. Luis 等^[11]研究发现, 橡木-山毛榉混合林土壤漆酶基因有特定的分布规律, O_h层具有较高的漆酶基因多样性, 但该类研究仅限于某一特定森林土壤, 而凋落物的分解受到植被类型、土壤等多种因素的综合调控^[5, 12].

森林生态系统中, 不同植被类型具有不同物种组成和结构, 引起凋落物质和量的不同, 从而导致分解凋落物的微生物功能基因多样性和群落结构的差异. 本文选取亚热带两种截然不同的植被和土壤类型的森林生态系统为研究对象, 比较研究两种森林土壤凋落物层(O层)和土壤表层(A层)漆酶基因多样性, 以期全面深入研究森林生态系统植物向土壤归还有机质的碳循环过程以及相应的微生物驱动机制提供基础数据.

1 研究地区与研究方法

1.1 研究区概况与样品采集

研究区位于桂西北环江毛南族自治县(24°44′—25°33′N, 107°51′—108°43′E), 属亚热带季风气候区, 年均气温16.5℃~19.9℃, 年均降雨量为1389~1750 mm, 温暖湿润, 雨热同季. 于2009年10月, 在研究区选取两种森林生态系统: 棕色石灰土发

育的原生常绿落叶阔叶混交林(KPF)和碎屑岩发育的红壤人工纯马尾松(*Pinus massoniana*)林(RMP). 原生林的林龄大于100年, 无人干扰, 地表凋落物层厚1~3 cm. 其主要植物种类: 乔木层: 灰岩棒柄花(*Cleidion bracteosum*)、平阳厚壳桂(*Cryptocarya chingii*)、润楠(*Machilus pingii*)、黔南厚壳桂(*Cryptocarya austroweichouensis*)、云南厚壳桂(*Cryptocarya yunnanensis*); 灌木层: 野独活(*Milium chunii*)、九里香(*Murraya paniculata*)、茜树(*Aidia cochinchinensis*); 草本层: 冷水花(*Pilea notata*)、翠云草(*Selaginella uncinata*)、光茎钝叶楼梯草(*Elatostema obtusum* var. *trilobulatum*). 马尾松林为1978年飞机播种的产物, 有少量的人为干扰(间伐), 林隙较少, 凋落物层为厚3~5 cm的松针叶. 两种生态系统分别在阴坡和阳坡按上、中、下坡位共设置8~10块20 m×20 m的小样方, 每个样方中沿“S”形路线分别采集6~10个点(10 cm×10 cm)的凋落物层(O层)和0~20 cm表层土壤(A层)各1 kg, 混匀. 利用四分法分别分成两份, 一份(约100 g)用灭菌锡箔纸包好放入灭菌布袋, 立即投入液氮速冻, 带回实验室经冷冻干燥、磨细分装后, 置于-70℃保存, 用于漆酶基因多样性分析; 另一份自然风干用于样品基本性质分析.

1.2 样品基本性质测定

采用浓硫酸法^[13]测定样品中木质素的含量. 运用全自动碳氮分析仪测定样品中碳和氮的含量. pH值采用电极法, 水与样品比为2.5:1. 样品基本性质见表1.

1.3 DNA的提取、漆酶基因的扩增、TA克隆、测序

采用文献^[14]中的方法提取样品中的微生物总DNA. 用试剂盒(QIAGEN)对提取的DNA进行纯化, 用核酸蛋白检测仪(Eppendorf)检测DNA的浓度和质量. 采用“降落PCR”方法, 以担子菌漆酶基因简并引物Cu1F和Cu2R^[11], 扩增样品中的担子菌漆酶基因. 扩增体系体积为25 μL, 含1×Taq buffer(缓冲液), 5 nmol · L⁻¹ dNTP(MBI), 引物各30 pmol, 2.5 U Taq酶(天根), 模板20~40 ng. 反应条件: 94℃ 3 min; 94℃ 45 s, 58℃~49℃ 1 min(每循环降1℃), 72℃ 2 min, 10个循环; 94℃

45 s, 54 ℃ 1 min, 72 ℃ 2 min, 30 个循环; 72 ℃ 10 min. PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测产生了约 142、200、250 bp 3 个条带(图 1, 同 Luis 等^[11]). 将这 3 个条带分别克隆、测序, 经分析 250 bp 的片段与数据库中的漆酶基因无相似性或相似性极低. 因此, 本研究未对 250 bp 的片段进行分析. 大多数真核生物的基因都有内含子, 在本研究中 200 bp 的片段是含内含子的漆酶基因. 对各样品中获得的 142 bp(无内含子)和 200 bp(有内含子)片段同时切胶后用试剂盒(Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System, Promega)回收目的片段. 以 PGEM-T 载体试剂盒(Promega)对回收的 PCR 产物进行克隆. 从各克隆库中随机挑取白斑并编号, 通过菌液 PCR 扩增, 筛选有预期片段的阳性克隆. 按随机挑取克隆子的顺序编号从各克隆库中挑取 130 ~ 170 个阳性克隆子进行基因测序(华大基因公司).

1.4 漆酶基因多样性分析

将测得的所有序列与 GenBank 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)中的漆酶基因序列比对, 并按各克隆库中的相似性 ≥ 97% (核苷酸)的序列归为一个操作单元 (OTU, 视为一般意义上的“种”^[15]). 以 Coverage (*C*) 表征各克隆库的覆盖度, 以 OTUs 数目 (*S*)、Shannon 指数 (*H*)^[16] 和 Evenness 指数 (*E*) 分别表征各克隆库中的漆酶基因种群丰富度、多样性和均匀度, 以 Jaccard 指数 (*C_j*) 表示克隆库之间的相似性. 计算公式分别为: $C = 1 - n_1/N$; $H = - \sum_{i=1}^S P_i \ln P_i$; $E = H/\ln S$; $C_j = j/(a+b-j)$. 式中:

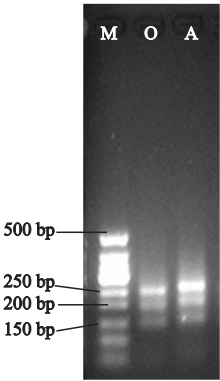


图 1 担子菌漆酶基因扩增图谱
Fig.1 Profile of amplification of basidiomycete-laccase gene fragments.
M: 50 bp DNA Marker, 天根 TIANGEN; O: O 层样品 Sample of O horizon; A: A 层样品 Sample of A horizon.

n_1 为各克隆库中仅出现过一次的 OTUs 数; N 为克隆库中总克隆子数; S 为克隆库中总 OTUs 数; P_i 为第 i 个 OTU 在克隆库中所占的比例; j 为两个克隆库重叠的克隆子数 (核苷酸相似性 ≥ 97%); a 和 b 分别为两个克隆库的克隆子数.

本研究获得的漆酶基因序列均已提交 GenBank 数据库, 序列登录号为: HQ835391-HQ835756.

2 结果与分析

2.1 样品的基本性质

样品之间的基本性质差异显著(表 1): C、N 和木质素含量均以 KPFO > RMPO > KPFA > RMPA ($P < 0.05$), C/N 以 KPFA > RMPA 和 RMPO > KPFO ($P < 0.05$), pH 以 KPFA > KPFO > RMPA 和 RMPO ($P < 0.05$).

2.2 漆酶基因多样性及种群丰富度

4 个克隆库中漆酶基因的种群丰富度和香农多样性指数的大小变化趋势为 KPFO > KPFA > RMPA > RMPO(表 2), 均匀度指数以 RMPA 最高, KPFO 和 KPFA 居中, RMPO 最低. 各克隆库的覆盖度都大于 70%, 基本能代表样品中的漆酶基因多样性 (KPFO 除外, 说明 KPFO 样品中漆酶基因多样性很高). 此外, 种群丰富度曲线的趋势与漆酶基因多样性指数一致: KPF 样地高于 RMP 样地, 且 RMPO 克隆库已接近平台期(图 2).

分别比较两森林土壤同一层位和同一森林土壤不同层位克隆库的漆酶基因核苷酸序列相似性(表 2): 以 RMPO/RMPA 最高, 达 43.4%, KPFO/RMPO 和 KPFA/RMPA 居中, KPFO/KPFA 最低.

表 1 样品的基本性质
Table 1 Basic properties of different samples

样品 Sample	C (%)	N (%)	木质素 Lignin (%)	C/N	pH
KPFO	31.7a	2.2a	0.28a	14.33c	6.75b
KPFA	6.4c	0.3c	0.06c	20.36a	7.62a
RMPO	20.0b	1.2b	0.20b	16.06b	3.82c
RMPA	1.6d	0.1d	0.02d	16.54b	3.77c

KPFO、KPFA 分别代表原生林的 O 层和 A 层 KPFO and KPFA denoted the litter and the surface soil horizons of primeval Karst forest, respectively; RMPO、RMPA 分别代表马尾松林的 O 层和 A 层 RMPO and RMPA indicated the litter and the surface soil horizons of masson pine forest, respectively. 下同 The same below. 同列数值后相同字母表示不同样品间该性质无差异 ($P > 0.05$, 邓肯法) Values in each column with the same letter were not significantly different among samples at 0.05 level according to Duncan's test.

表 2 各克隆库漆酶基因多样性及相似性
Table 2 Diversity of laccase gene in each clone library and similarity among four different clone libraries

样品 Sample	克隆子数 Number of clones (<i>N</i>)	OTUs 数 Number of OTUs (<i>S</i>)	覆盖度 Coverage (<i>C</i>)	香农多样性指数 Shannon diversity index (<i>H</i>)	均匀度指数 Evenness index (<i>E</i>)	克隆库相似性 Similarity between two libraries (% , <i>C_j</i>)		
						KPFO	KPFA	RMPO
KPFO	158	89	0.58	4.065	0.906	—	—	—
KPFA	170	77	0.70	3.849	0.886	28.1	—	—
RMPO	131	48	0.79	3.321	0.858	32.6	—	—
RMPA	130	62	0.73	3.823	0.926	—	35.1	43.4

2.3 漆酶基因的遗传分类及优势种群分布

4 个克隆库中含漆酶基因的担子菌在“目”地位上均以伞菌目占绝对优势,且 RMP 中伞菌目占克隆库比例达 86.2% ~ 90.8%,而在 KPF 中比例为 59.5% ~ 62.9%. KPF 样地以多孔菌目为次要优势“目”,比例为 10.6% ~ 23.4%. 钉菇目和红菇目在 4 个克隆库中均有少量分布(图 3).

KPFO、KPFA 和 RMPO 中各有一个占绝对优势的相同的种群(即 OTU),其克隆子数分别占各克隆库的 12.0%、10.6% 和 18.3%(图 4),它们均与伞菌目口蘑科小菇属(*Mycena rosea*, 登录号为 CAD65820)的氨基酸相似性为 74%(表 3). KPFO、KPFA、RMPO 和 RMPA 中分别有 6、5、8 和 7 个优势种群(克隆子数量占克隆库 3.0% ~ 9.4%),其中绝大部分与伞菌目口蘑科小菇属的相似性在 70% 以上,少部分与伞菌目侧耳科侧耳属的相似性在 55% 以上(表 3). KPFO/RMPO、KPFA/RMPA、KPFO/KPFA 和 RMPO/RMPA 间分别有 18、26、26 和 24 个重叠的 OTUs(数据未列出),其中优势 OTUs 分别为 5、

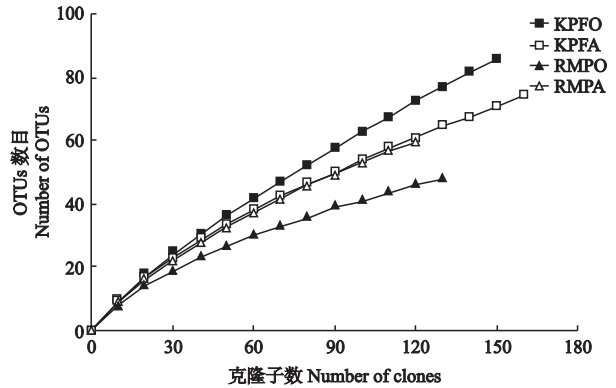


图 2 克隆库的漆酶基因种群丰富度曲线
Fig.2 Richness curves of the laccase gene population in clone libraries.

KPFO、KPFA 分别代表原生林的 O 层和 A 层 KPFO and KPFA denoted the litter and the surface soil horizons of primeval Karst forest, respectively; RMPO、RMPA 分别代表马尾松林的 O 层和 A 层 RMPO and RMPA indicated the litter and the surface soil horizons of masson pine forest, respectively. 下同 The same below.

3、2 和 5 个(含绝对优势 OTUs,表 3).

KPFO、KPFA、RMPO 和 RMPA 中由 2 个克隆子产生的 OTUs 数分别占总 OTUs 数的 16.9%、14.3%、20.8% 和 21.0%,而单克隆 OTUs 数分别占总 OTUs 数的 74.2%、66.2%、56.3% 和 56.5%,且分别占克隆库的 41.8%、30.0%、20.6% 和 26.9%(图 4),说明在各克隆库中大部分的 OTUs 是由少量克隆子产生的.

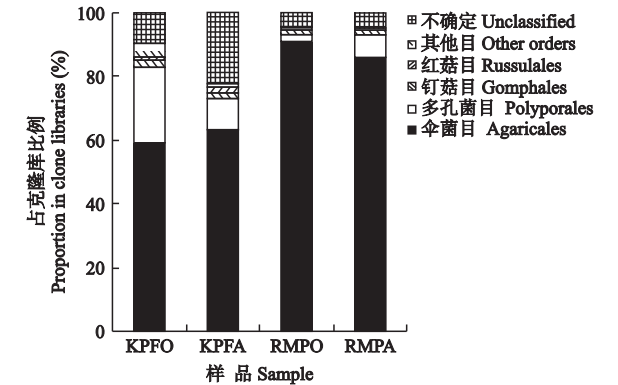


图 3 各克隆库漆酶基因在“目”地位上的分类比较
Fig.3 Comparisons of the proportional distribution of laccase gene in clone libraries at order level.

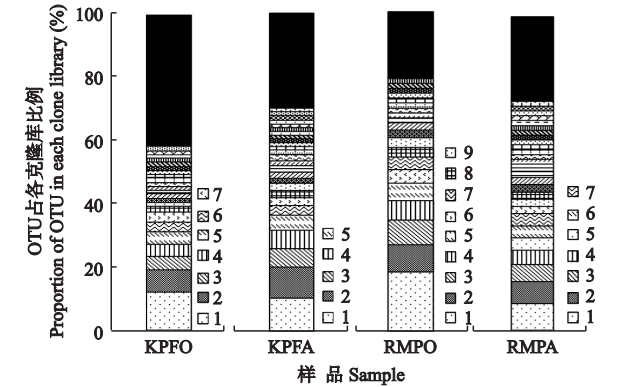


图 4 各克隆库中优势种群分布情况
Fig.4 Distribution of the detected dominant basidiomycetous laccase OTUs in each clone library.

纯黑色的图标表示各克隆库中所有单克隆产生的 OTU 占克隆库比例 The pure black icons represented the total percentage of single clone OTUs in each clone library.

表 3 各克隆库中优势种群(OTUs)的遗传分类
Table 3 Genetic classification of dominant species in clone libraries

OTUs 编号(占克隆库百分比, %) No. of OTUs (Percentage in clone library)				与 GenBank 数据库中漆酶基因序列比较 Comparison of laccase gene sequences with those in GenBank		
KPFO	KPFA	RMPO	RMPA	最相似序列 的登录号 Accession number	遗传分类 Genetic classification	氨基酸相似性 Similarity of amino acid (%)
1(12.0)	1(10.6)	2(8.4)	1(8.5)	CAD65820	小菇属 <i>Mycena</i> sp.	74
6(3.2)	2(9.4)					
2(7.0)		1(18.3)	5(3.8)	CAD65820	小菇属 <i>Mycena</i> sp.	72
			6(3.8)			
3(4.4)		8(3.1)		CAD65832	小菇属 <i>Mycena</i> sp.	89
4(3.8)				CAD65833	小菇属 <i>Mycena</i> sp.	75
5(3.8)				CAJ00406	侧耳属 <i>Pleurotus</i> sp.	55
7(3.2)		5(5.3)		CAD45378	侧耳属 <i>Pleurotus</i> sp.	78
	3(5.9)	4(6.1)		CAD65800	小菇属 <i>Mycena</i> sp.	89
	4(5.9)	7(3.8)	4(4.6)	CAD65834	小菇属 <i>Mycena</i> sp.	89
	5(4.7)			CAD65833	小菇属 <i>Mycena</i> sp.	78
		3(7.6)	7(3.8)	CAD65794	小菇属 <i>Mycena</i> sp.	85
		9(3.1)				
		6(3.8)		ACL13702	小菇属 <i>Mycena</i> sp.	89
			2(6.9)	ACL13702	小菇属 <i>Mycena</i> sp.	78
			3(5.4)	CAD65832	小菇属 <i>Mycena</i> sp.	85

OTUs 编号与图 4 一致 The numbers of OTUs were in accord with Fig. 4.

3 讨 论

两森林同一层次土壤中,原生林担子菌漆酶基因多样性和种群丰富度高于马尾松林. 主要原因是底物的可利用性和复杂性. 对于 O 层,原生林的植被多样性远远高于只有单一物种的马尾松林,前者凋落物的组成及成分比后者单一松针的更复杂、更多样化^[17],能为更多的微生物区系提供生命活动所需要的营养与能量^[18](表 1),更有利于利用不同碳组分底物的真菌生长,从而增加分解该底物的漆酶基因多样性. 对于 A 层,原生林高的植被多样性决定进入该层的微生物可利用底物可能比马尾松林更丰富多样,而研究显示,土壤微生物多样性与地上植被多样性呈正相关^[19-20];马尾松林土壤 pH 显著低于原生林(表 1),这种过低的 pH 也会降低漆酶基因的多样性,因为大部分担子菌漆酶的最适 pH 为 4~6^[21-22]. 此外,原生林和马尾松林中存在属于口蘑科或侧耳科的相同优势种群,但与数据库中“属”或“种”地位已知的漆酶基因序列相似性小于 95%,因此它们是新的含漆酶基因的序列.

原生林担子菌漆酶基因多样性和种群丰富度以 O 层高于 A 层,而马尾松林则是以 A 层明显高于 O 层,其原因可能来自底物浓度、多样化以及微生物种群均匀度的差异. 底物异质性是导致微生物群落物种多样性的重要因素之一^[23]. 原生林由于其高的植被物种多样性,导致进入 O 层的有机质丰富多样,

增加了降解木质素的担子菌多样性;而原生林土壤 A 层木质素浓度显著降低(表 1),导致担子菌可利用底物减少,且经过微生物降解形成的土壤有机质主要以腐殖质的形态存在^[24],造成原生林土壤 A 层底物的丰富程度降低,从而引起 A 层担子菌漆酶基因多样性下降^[25]. 此外,原生林 O 层 pH 环境也更适合真菌的生长,提高了该层担子菌多样性^[26]. 对于马尾松林,虽然 O 层木质素浓度显著高于 A 层,但 O 层有机质组分单一,而 A 层担子菌可利用的底物除来自凋落物分解过程中进入土壤层以外,还有来自马尾松的根系分泌物及死亡的根系,因此组分与 O 层相异,同时土壤中具有丰富且复杂的小生境,因而漆酶基因多样性高^[23,27]. 因此,与其说底物浓度,还不如说底物的多样化决定担子菌漆酶基因的多样性. 研究表明,当微生物群落中物种丰富度和均匀度指数都高时,多样性指数也高,反之则低^[28]. 原生林 O 层和马尾松林 A 层中含漆酶基因的担子菌种群分布相对均匀(均匀度指数分别为 0.906 和 0.926,表 2),因而漆酶基因多样性较高. 两森林土壤获得的漆酶基因核苷酸序列以马尾松林的 O 层和 A 层之间相似性最高,原生林 O 层和 A 层之间相似性相对最低(表 2),进一步说明植被对真菌群落结构的影响极为关键^[12]. 与植物物种多样化的原生林相比,受马尾松林单一植被的影响,其 O 层与 A 层的环境条件差异相对较小.

4 结 语

研究发现,亚热带原生性常绿落叶阔叶混交林土壤 O 层和 A 层中存在比马尾松林更高的担子菌漆酶基因多样性;两种森林土壤具有相同的优势种群,但两生态系统的担子菌种群结构差异明显;土壤 pH 值和由植被不同引起的凋落物成分多样性差异可能是造成两森林土壤漆酶基因多样性差异的主要原因。研究结果为进一步深入探讨漆酶对生态系统土壤有机质转化的驱动过程及其生态效应、高效利用可降解木质素的担子菌等奠定了基础。

参考文献

- [1] Dixon RK, Solomon AM, Brown S, *et al.* Carbon pools and flux of global forest ecosystems. *Science*, 1994, **263**: 185–190
- [2] Liu G-W (刘广文). Forest and carbon cycle. *Modern Agricultural Science and Technology* (现代农业科技), 2007(19): 219–220 (in Chinese)
- [3] Ngao J, Epron D, Brechet C, *et al.* Estimating the contribution of leaf litter decomposition to soil CO₂ efflux in a beech forest using ¹³C-depleted litter. *Global Change Biology*, 2005, **11**: 1768–1776
- [4] Raich JW, Schlesinger WH. The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate. *Tellus Series B-Chemical and Physical Meteorology*, 1992, **44**: 81–99
- [5] Yang W-Q (杨万勤), Deng R-J (邓仁菊), Zhang J (张健). Forest litter decomposition and its responses to global climate change. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2007, **18**(12): 2889–2895 (in Chinese)
- [6] Yang WQ, Wang KY, Kellomaki S, *et al.* Annual and monthly variations in litter macronutrients of three subalpine forests in the western China. *Pedosphere*, 2006, **16**: 788–798
- [7] Wang R-Y (王仁佑), Zeng G-M (曾光明), Yu H-Y (郁红艳), *et al.* Lignin degradation mechanism by microbes. *Journal of Microbiology* (微生物学杂志), 2008, **28**(3): 59–63 (in Chinese)
- [8] Chen F-L (陈法霖), Jiang B (江波), Zhang K (张凯), *et al.* Relationships between initial chemical composition of forest leaf litters and their decomposition rates in degraded red soil hilly region of Southern China. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2011, **22**(3): 565–570 (in Chinese)
- [9] Levin L, Forchiassin F. Ligninolytic enzymes of the white rot basidiomycete *Trametes trogii*. *Acta Biotechnologica*, 2001, **21**: 179–186
- [10] Xu Y (许颖), Lan J (兰进). Advances in the research of fungal laccase. *Acta Edulis Fungi* (食用菌学报), 2005, **12**(1): 57–64 (in Chinese)
- [11] Luis P, Walther G, Kellner H, *et al.* Diversity of laccase genes from basidiomycetes in a forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, **36**: 1025–1036
- [12] Garbeva P, van Veen JA, van Elsas JD. Microbial diversity in soil: Selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Phytopathology*, 2004, **42**: 243–270
- [13] Поцинок ХН. Trans. Jing J-H (荆家海), Ding Z-R (丁钟荣). Plant Biochemistry Analytical Method. Beijing: Science Press, 1981 (in Chinese)
- [14] Chen X-B (陈香碧), Su Y-R (苏以荣), He X-Y (何寻阳), *et al.* Bacterial community and structure of soil in primeval forest and degraded ecosystem in Karst region. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2009, **20**(4): 863–871 (in Chinese)
- [15] Xia B-C (夏北成), Zhou J, Tiedje JM. Structures of bacteria cloning communities in the soil environment and their ecological characteristics. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2001, **21**(4): 574–578 (in Chinese)
- [16] Shannon CE, Weaver W. The Mathematical Theory of Communication. Urbana, IL: University of Illinois Press, 1949: 117
- [17] Wang Q-K (王清奎), Wang S-L (汪思龙), Feng Z-W (冯宗炜). Comparison of active soil organic carbon pool between Chinese fir plantations and evergreen broadleaved forest. *Journal of Beijing Forestry University* (北京林业大学学报), 2006, **28**(5): 1–6 (in Chinese)
- [18] Zhou J (周桔), Lei T (雷霆). Review and prospects on methodology and affecting factors of soil microbial diversity. *Biodiversity Science* (生物多样性), 2007, **15**(3): 306–311 (in Chinese)
- [19] Zak DR, Holmes WE, White DC, *et al.* Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: Are there any links? *Ecology*, 2003, **84**: 2042–2050
- [20] Xia B-C (夏北成), Zhou J. Effect of vegetation on structure of soil microbial community. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 1998, **9**(3): 296–300 (in Chinese)
- [21] Mendes LF, Bastos EL, Desjardin DE, *et al.* Influence of culture conditions on mycelial growth and bioluminescence of *Gerronema viridilucens*. *FEMS Microbiology Letters*, 2008, **282**: 132–139
- [22] Dedeyan B, Klonowska A, Tagger S, *et al.* Biochemical and molecular characterization of a laccase from *Marasmius quercophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**: 925–929
- [23] Torsvik V, Øvreås L. Microbial diversity and function in soil: From genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, 2002, **5**: 240–245
- [24] Wu T-Y (武天云), Schoenau JJ, Li F-M (李凤民), *et al.* Concepts and relative analytical techniques of soil organic matter. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2004, **15**(4): 717–722 (in Chinese)
- [25] Zhou JZ, Xia BC, Treves DS, *et al.* Spatial and resource factors influencing high microbial diversity in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, **68**: 326–334
- [26] Yang S-S (杨苏声), Zhou J-C (周俊初). Microbiology. Beijing: Science Press, 2004: 181 (in Chinese)
- [27] Wang D-L (王德炉), Zhu S-Q (朱守谦), Huang B-L (黄宝龙). Preliminary study on types and quantitative assessment of Karst rocky desertification in Guizhou Province, China. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2005, **25**(5): 1057–1063 (in Chinese)
- [28] Guo Z-G (郭正刚), Liu H-X (刘慧霞), Sun X-G (孙学刚), *et al.* Characteristics of species diversity of plant communities in the upper reaches of Bailany River. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), 2003, **27**(3): 388–395 (in Chinese)

作者简介 陈香碧,女,1982年生,博士研究生.主要从事土壤环境生态与微生物分子生态研究. E-mail: challenge200702@126.com

责任编辑 肖红