ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica

第 32 卷 第 8 期 Vol.32 No.8 2012

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版

中国科学院科学出版基金资助出版

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 32 卷 第 8 期　　2012 年 4 月　(半月刊)

目　　次

东北地区 5 种阔叶树苗木对火烧的生理响应…… 王　荣,胡海清 (2303)
梭梭木虱发生规律及其影响因子…… 李粉莲,吴雪海,王佩玲,等 (2311)
基于遥感降尺度估算中国森林生物量的空间分布…… 刘双娜,周　涛,舒　阳,等 (2320)
流域景观格局与河流水质的多变量相关分析…… 赵　鹏,夏北成,秦建桥,等 (2331)
内蒙古达赉湖地区赤狐生境选择及生境景观特征分析…… 张洪海,李成涛,窦华山,等 (2342)
雅鲁藏布江流域底栖动物多样性及生态评价…… 徐梦珍,王兆印,潘保柱,等 (2351)
用组合模型综合比较的方法分析气候变化对朱鹮潜在生境的影响…… 翟天庆,李欣海 (2361)
2010 年牧区 2 代草地螟成虫迁飞的虫源分析 …… 张　丽,张云慧,曾　娟,等 (2371)
基于细胞色素 *b* 基因的中国岩羊不同地理种群遗传差异分析…… 李楠楠,刘振生,王正寰,等 (2381)
喀斯特峰丛洼地不同退耕还林还草模式的土壤微生物特性…… 鹿士杨,彭晚霞,宋同清,等 (2390)
永定河沿河沙地杨树人工林生态系统呼吸特征…… 方显瑞,张志强,查同刚,等 (2400)
基于湿地植物光谱的水体总氮估测…… 刘　克,赵文吉,郭逍宇,等 (2410)
背瘤丽蚌 F 型线粒体基因组全序列分析 …… 陈　玲,汪桂玲,李家乐 (2420)
流域"源-汇"景观格局变化及其对磷污染负荷的影响——以天津于桥水库流域为例 ……
…… 李崇巍,胡　婕,王　飒,等 (2430)
线虫群落对抚顺煤矸石山周边土壤可溶性盐污染的响应…… 张伟东,吕　莹,肖　莹,等 (2439)
地上竞争对林下红松生物量分配的影响…… 汪金松,范秀华,范　娟,等 (2447)
湿地松和马尾松人工林土壤甲烷代谢微生物群落的结构特征…… 王　芸,郑　华,陈法霖,等 (2458)
马尾松和杉木树干韧皮部水溶性糖 $\delta^{13}C$ 值对气象因子的响应 …… 卢钰茜,王振兴,郑怀舟,等 (2466)
沙坡头人工植被演替过程的土壤呼吸特征…… 高艳红,刘立超,贾荣亮,等 (2474)
豫西刺槐能源林的热值动态…… 谭晓红,刘诗琦,马履一,等 (2483)
铁皮石斛种子的室内共生萌发 …… 吴慧凤,宋希强,刘红霞 (2491)
红光与远红光比值对温室切花菊形态指标、叶面积及干物质分配的影响 ……
…… 杨再强,张继波,李永秀,等 (2498)
扑草净对远志幼苗根系活力及氧化胁迫的影响…… 温银元,郭平毅,尹美强,等 (2506)
地表臭氧浓度增加和 UV-B 辐射增强及其复合处理对大豆光合特性的影响 ……
…… 郑有飞,徐卫民,吴荣军,等 (2515)
AMF 对喀斯特土壤枯落物分解和对宿主植物的养分传递 …… 何跃军,钟章成,董　鸣 (2525)
传统豆酱发酵过程中细菌多样性动态…… 葛菁萍,柴洋洋,陈　丽,等 (2532)
定位施肥对紫色菜园土磷素状况的影响…… 孙倩倩,王正银,赵　欢,等 (2539)
基于生态需水保障的农业生态补偿标准…… 庞爱萍,孙　涛 (2550)
保障粮食安全造成的生态价值损失评估模型及应用…… 芦蔚叶,姜志德,张应龙,等 (2561)

专论与综述

疏浚泥用于滨海湿地生态工程现状及在我国应用潜力…… 黄华梅,高　杨,王银霞,等 (2571)

问题讨论

厌氧氨氧化菌群体感应系统研究…… 丁　爽,郑　平,张　萌,等 (2581)
基于形态结构特征的洞庭湖湖泊健康评价…… 帅　红,李景保,夏北成,等 (2588)

研究简报

黄土高原不同树种枯落叶混合分解效应…… 刘增文,杜良贞,张晓曦,等 (2596)
不同经营类型毛竹林土壤活性有机碳的差异…… 马少杰,李正才,王　斌,等 (2603)
干旱对辣椒光合作用及相关生理特性的影响 …… 欧立军,陈　波,邹学校 (2612)
硅和干旱胁迫对水稻叶片光合特性和矿质养分吸收的影响 …… 陈　伟,蔡昆争,陈基宁 (2620)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 326 * zh * P * ￥70.00 * 1510 * 36 * 2012-04

封面图说:红树林粗大的气生根——红树林是热带、亚热带海湾及河口泥滩上特有的常绿灌木或乔木群落。由于海水环境条件特殊,红树林植物具有一系列特殊的生态和生理特征。其中之一就是气根,红树从根部长出许多指状的气生根露出海滩地面,以便在退潮时甚至潮水淹没时用以通气,故称呼吸根。在中国,红树林主要分布在海南、广西、广东和福建省沿海,它一般分布于高潮线与低潮线之间的潮间带,往往潮差越大、红树的呼吸根就长得越高越粗大。

彩图提供:陈建伟教授　北京林业大学　E-mail:cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201103080280

王芸,郑华,陈法霖,曾静,陈圣宾,Jizhong Zhou,欧阳志云. 湿地松和马尾松人工林土壤甲烷代谢微生物群落的结构特征. 生态学报,2012,32(8):2458-2465.

Wang Y, Zheng H, Chen F L, Zeng J, Chen S B, Zhou J Z, Ouyang Z Y. Research of methane metabolic microbial community in soils of slash pine plantation and Masson pine plantation. Acta Ecologica Sinica,2012,32(8):2458-2465.

湿地松和马尾松人工林土壤甲烷代谢微生物群落的结构特征

王 芸[1],郑 华[1],陈法霖[1],曾 静[1],陈圣宾[1],Jizhong Zhou[2],欧阳志云[1,*]

(1. 中国科学院生态环境研究中心 城市与区域生态国家重点实验室,北京 100085;

2. Institute for Environmental Genomics and Department of Botany and Microbiology, University of Oklahoma, Norman, OK 73019 USA)

摘要:土壤甲烷代谢微生物影响甲烷的产生和氧化,然而关于林型对土壤中甲烷代谢微生物群落结构影响的研究较少。采用基因芯片 GeoChip 3.0 研究了湿地松人工林和马尾松人工林土壤甲烷代谢微生物群落结构特征。结果如下,(1)两种林型的甲烷代谢微生物群落结构存在极显著差异($P=0.008$),林型能解释其 34.9% 的变异;(2)产甲烷菌(包含甲基辅酶 M 还原 α 亚基基因 *mcrA* 的微生物)的优势菌群发生了变化,湿地松人工林的的优势菌为 *Methanocorpusculum labreanum Z*,马尾松人工林的优势菌群除 *Methanocorpusculum labreanum Z* 外,还包括产甲烷古菌和 *Methanosarcina mazei Gol*;(3)甲烷营养菌(包含甲烷单加氧酶基因 *pmoA* 基因的微生物)的优势菌为Ⅱ型,有 3 种不可培养细菌只在湿地松人工林检测到,在马尾松人工林中未检测到;(4)*mcrA* 基因丰度或同源基因数量与土壤容重正相关,与土壤粘粒含量呈显著负相关;*pmoA* 基因信号强度或多样性指数与土壤全碳含量、全磷含量和速效氮含量显著正相关。总之,相比本地种马尾松人工林,引进种湿地松人工林的土壤甲烷代谢微生物群落结构发生了显著变化。

关键词:功能基因芯片(GeoChip 3.0);*mcrA* 基因;*pmoA* 基因;湿地松人工林;马尾松人工林

Research of methane metabolic microbial community in soils of slash pine plantation and Masson pine plantation

WANG Yun[1], ZHENG Hua[1], CHEN Falin[1], ZENG Jing[1], CHEN Shengbin[1], ZHOU Jizhong[2], OUYANG Zhiyun[1,*]

1 *State Key Laboratory for Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100085, *China*

2 *Institute for Environmental Genomics and Department of Botany and Microbiology, University of Oklahoma, Norman, OK* 73019, *USA*

Abstract: Methane is the second most abundant greenhouse gas in the atmosphere. Methane metabolic microbial community in soil affect the production and oxidation of methane. Land use type significantly influence methane release from soil and methane metabolic microorganisms. China has the biggest plantation area in the world. In central and Southern China, Masson pine (*Pinus massoniana*) and slash pine (*Pinus elliottii*) plantations account for 59% of the forested areas. What effect of plantation, especially the introduced slash pine plantation, on methane metabolic microbial community deserves much concern. While little has been researched about effects of forest type on methane metabolism community in soil. Molecular technique is a good way to reveal the community of methane metabolic microorganisms. Functional gene

基金项目:国家自然科学基金(40871130);国家重大基础研究(2009CB421105);城市与区域生态国家重点实验室专项基金

收稿日期:2011-03-08; **修订日期**:2011-05-23

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zyouyang@rcees.ac.cn

microarray is quantitative and it can link structure to function of soil microbial community. Thus it is a good way to reveal the soil microbial community involved in methane metabolism. Using the third generation functional gene microarray (GeoChip 3.0), this research studied structure of methane metabolic soil microbial community in Masson pine and slash pine plantations in red soil. For each type of forest plantation, we randomly selected 5 plots on independent stands in Yanshan District and Lingui County located in Guilin city in Guangxi Province, Southern China. In each plot, three subsamples within the area of 10 m × 10 m were randomly chosen. For each subsample, five 0 to 10 cm depth soil cores were extracted using a 3.5 cm diameter auger and were composite into one subsample.

The results showed that, (1) there was no significant difference among forest types in the normalized signal intensity or diversity of either the whole methane metabolic microbial community, methanogenus or methanotrophs. (2) there was significant difference in methane metabolized microbial community ($P=0.007$). Forest type explained 34.9% variation of soil methane metabolic microbial community. (3) there was significant difference in methanogenus (microorganisms include *pmoA* genes) community ($P=0.015$), forest type explained 45.5% variation of methanogenus community in soil. The dominant species of methanogenus differed between forest types. The dominant species of methanogenus in the slash pine plantations was *Methanocorpusculum labreanum Z*. While the dominant species in the Masson pine plantations also included uncultured methanogenic archaeon and *Methanosarcina mazei Gol* in addition to *Methanocorpusculum labreanum Z*. (4) There was also a strong trend that Masson pine plantation and slash pine plantation differed in methanotrophs (microorganisms include *pmoA* genes) ($P=0.068$). Among methanotrophs, 4 genes from uncultured bacteria were only found in the slash pine plantation, which could not be found in the Masson pine plantation. (5) The signal intensity or gene number of *mcrA* genes family was positively correlated with soil bulk density, and negatively correlated with soil clay content. The signal intensity or Shannon-Wiener diversity of *pmoA* genes family was positively correlated with content of total carbon, total phosphorus and available nitrogen content in soil.

Thus, compared with the native Masson plantations, the introduced slash pine plantations had significantly changed the original methane metabolism community structure.

Key Words: functional gene array (GeoChip 3.0); *mcrA* genes; *pmoA* genes; slash pine plantation; Masson pine plantation

甲烷是仅次于二氧化碳的第二大温室气体。土壤中的甲烷代谢微生物包括产甲烷菌和甲烷营养菌,分别影响着甲烷的产生和氧化。土壤中的产甲烷菌是大气甲烷的唯一生物源[1],甲烷营养菌是以甲烷为唯一能源和碳源的细菌,对甲烷减排意义重大。关于甲烷代谢微生物的研究多集中在甲烷的源中,即湿地和稻田中[2-3],而在甲烷的汇中研究较少,如旱地和林地土壤[2]。据估计,全球每年从大气进入旱地和林地土壤而被甲烷营养菌氧化的甲烷数量约占全球大气甲烷总汇的 6%[1]。因而研究旱地和林地中甲烷代谢微生物对明确甲烷排放规律意义重大。

土壤甲烷氧化菌的群落结构和多样性受以下措施的影响,如施肥种类[3-4]、放牧强度[5]、土地利用类型[6-7]等。牧场经辐射松(*Pinus radiata*)造林后会减缓甲烷排放,Ⅱ型甲烷营养菌增加[6],在经过 30 a 的造林后,土壤中的甲烷氧化菌的优势菌由Ⅰ型变为Ⅱ型[8]。草地造林后甲烷释放减少,可能是由土壤中甲烷氧化菌的数量增加,而非群落结构引起[9]。产甲烷菌是一种专性厌氧古菌,其群落结构受植被类型等因子的影响[10]。

在我国南方红壤区,引进种湿地松(*Pinus elliottii*)人工林和本地种马尾松(*Pinus massoniana*)人工林是两种重要的人工林类型,占我国中部和南部造林面积的 59%[11]。大规模的引进种湿地松人工林会引起包括甲烷代谢微生物在内的原有生态系统如何变化值得关注[12]。马尾松人工林和湿地松人工林的土壤甲烷代谢微生物群落结构特征鲜有报道。分子生物学技术是辨析甲烷代谢微生物多样性的重要手段[3],功能基因芯片

具有半定量[13],结构与功能联系密切[13-14]等优点。本文应用功能基因芯片 GeoChip 3.0,研究了马尾松人工林和湿地松人工林土壤甲烷代谢微生物群落结构,以期为合理地评价林型引起的土壤甲烷代谢微生物群落结构变化提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况与取样

本研究在我国广西省桂林市的雁山区和临桂县开展地处。样地地处 24.925—25.120°N, 110.245—110.328°E 之间,气候属于亚热带季风湿润气候,多年年均温 19.9 °C,年降雨量 1585 mm。以林龄为 20 a 左右的湿地松人工林和马尾松人工林为研究对象[15]。人工林每 3—4 a 抚育 1 次,包括乔木下表土疏松以及林下植被的砍伐。本研究所有调查均在人工抚育 2—3 a 之后进行。

于 2009 年 9 月 9 日进行取样。每种林型各选取 5 个样地,每个样地取 3 个样方。样方面积 10 m×10 m,每个样方中用直径为 3.5 cm 的土钻取 5 个土样,并混合为 1 个子样,每个样地的 3 个子样再混合为 1 个,共取混合样 10 个。取样深度为 0—10 cm[16],距离优势树种的主干为 50 cm[17]。土样放在冰盒中,3 d 内运回实验室处理。

1.2 实验方法

在实验室,一部分土样储存于-80 ℃的冰箱中,用于分子生物学研究;另一部分土样风干,参考常规方法进行土壤理化性质分析[18]。其中土壤碳含量用元素分析仪(Vario EL III, Germany) 测定,主要的土壤因子的变异如表 1。土壤宏基因组 DNA 的提取方法主要参考文献[19]进行,主要步骤包括用硫酸铝溶液去除土壤中的腐植酸、玻璃珠破碎细胞壁、酚沉淀蛋白质和异丙醇沉淀核酸。基因多样性的检测通过第三代功能基因芯片 GeoChip 3.0 实现,主要包括 DNA 的荧光标记、DNA 的杂交以及成像,具体实验步骤参考文献[20]完成。甲烷代谢微生物主要包括产甲烷菌和甲烷营养菌。产甲烷菌以甲基辅酶 M 还原酶 α 亚基 *mcrA* 基因表征[21],甲烷营养菌以甲烷氧化基因可溶性甲烷加单氧酶羟化酶基因 *mmox* 和甲烷单加氧酶基因 *pmoA* 表征[3]。

表 1 两种林型的主要土壤因子

Table 1 Main soil factors under two forest types

林型 Forest type	pH	含水量 /SM/%	容重 BD /(g/cm^3)	全碳含量 TC /(g/kg)	全氮含量 TN /(g/kg)	全磷含量 TP /(μg/g)	有效氮含量 AN /(μg/g)	粘粒含量 Clay content/%
S	4.88±0.10a	20.8±0.8a	1.13±0.03a	21.6±0.4a	1.67±0.09a	322±37a	116±2a	21.6±1.2a
M	4.25±0.48b	18.2±1.9b	1.23±0.79a	19.5±1.6a	1.55±0.11a	184±12b	94±7b	12.6±1.1b

同列不同字母表示在 $P<0.05$ 水平上差异显著; S: 湿地松人工林,M: 马尾松人工林

1.3 数据分析与统计

基因的香农多样性指数通过以下公式实现[22]。

$$H' = -\sum p_i \times \ln p_i \quad (1)$$

$$p_i = n_i / N \quad (2)$$

式中,n_i是某个特定基因第 i 个探针的信号强度,N 是所有探针的信号强度和。

甲烷代谢微生物群落结构用去趋势主成分分析 (DCA) 的二维排序图体现,通过 Canoco 4.5 实现。两种林型之间的信号强度通过独立样本 T 检验完成,在 SPSS 16.0 软件(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)中进行。甲烷代谢微生物群落的多元方差分析通过 R 语言(R Core Development Team, 2009) 中 vegan 数据包的 adonis 程序实现,其中的 R^2 表示因子解释变异的能力。聚类分析通过 Cluster (http://rana.stanford.edu)进行,通过 Treeview (http://rana.stanford.edu/) 可视化。甲烷代谢群落结构与环境因子之间的相关分析通过 SPSS 16.0 软件实现。

2 结果与分析

2.1 湿地松人工林和马尾松人工林土壤甲烷代谢微生物基因多样性

在 5 个湿地松人工林和 5 个马尾松人工林样地中,共检测到 39 种参与甲烷循环的基因。单因素方差分

析表明,产甲烷菌(包含甲基辅酶 M 还原酶 α 亚基 *mcrA* 基因),甲烷营养菌(包含甲烷氧化基因可溶性甲烷加单氧酶羟化酶基因 *mmox* 和甲烷单加氧酶基因 *pmoA*)的信号强度、信号点个数以及基因多样性指数在两种林型间无显著差异(表 1)。

2.2　湿地松人工林和马尾松人工林的甲烷代谢微生物群落结构

去趋势对应分析二轴排序图能较好的区分土壤甲烷代谢微生物群落结构(图 1)。第一轴能解释土壤甲烷代谢微生物群落结构变异 32.1% 的变异,第二轴解释 12.6% 的变异。马尾松人工林在第一轴上的得分极显著高于湿地松人工林 ($P=0.0001$)。多元方差分析表明,两种林型的甲烷代谢微生物群落结构存在显著差异($P=0.008$,表 2),林型解释了甲烷代谢微生物群落结构 34.9% 的变异(表 2)。

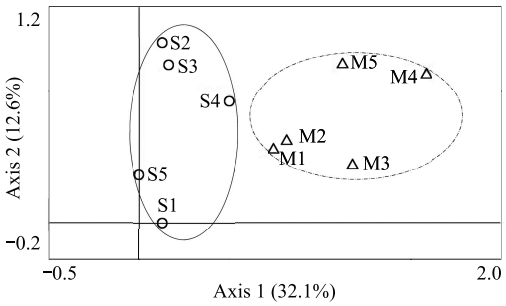

图 1　甲烷代谢微生物群落结构去趋势对应分析双轴图

Fig. 1　Detrended correspondence analysis (DCA) biplot of methane cycling genes

S1,S2,…,S5 湿地松人工林的 5 个样地; M1,M2,…,M5 马尾松人工林的 5 个样地; S1, S2, …, S5 Five plots of slash pine plantation; M1, M2, …, M5 Five plots of Masson pine plantation

表 1　湿地松和马尾松人工林的甲烷代谢微生物基因多样性($n=5$)

Table 1　Diversity of methane cycling microbial community in slash pine and Masson pine plantation ($n=5$)

林型 Forest type	同源基因个数 Gene numbers			同源基因信号强度和 Sum of normalized signal intensity			同源基因香农多样性指数 Shannon-Wiener diversity index of genes		
	mcrA	*mmox*	*pmoA*	*mcrA*	*mmox*	*pmoA*	*mcrA*	*mmox*	*pmoA*
S	6.20±0.80a	1(0,0)a	18.60±0.81a	4.69±0.82a	0.39±0.09a	10.77±0.95a	1.51±0.11a	0.016±0.004a	2.81±0.06a
M	6.80±0.80a	1(1,1)a	14.20±2.33a	6.19±0.29a	0.53±0.05a	8.10±1.52a	1.66±0.09a	0.022±0.002a	2.49±0.17a

表中数字为均值加减标准误,其中 *mmox* 的基因数不正态,表现形式为中位数(0.25 分位数,0.75 分位数),同列不同字母表示差异显著;S:湿地松人工林 Slash pine plantation;M:马尾松人工林 Masson pine plantation

表 2　基于 adonis 方程的林型间甲烷代谢微生物群落结构多元方差分析

Table 2　Adonis-based multivariate analysis of methane cycling microbial community in two forest types

林型对比 Forest type comparison	甲烷代谢基因 methane cycling genes			甲基辅酶 M 还原酶 α 亚基基因 *mcrA* genes			甲烷单加氧酶基因 *pmoA* genes		
	R^2	F	P	R^2	F	P	R^2	F	P
S-M	0.349	4.31	0.008	0.455	6.69	0.015	0.231	2.40	0.068

2.3　两种林型中产甲烷菌(包含 *mcrA* 基因的微生物)的群落结构

10 个样地中包含 *mcrA* 基因的微生物以古菌占优势。两种林型中包含 *mcrA* 基因的微生物群落结构存在显著不同($P=0.015$),林型能解释包含 *mcrA* 基因微生物群落结构变异的 45.5%(表 2)。两种林型包含 *mcrA* 基因的优势菌群发生了变化(图 2),湿地松人工林的优势菌群仅为广古菌门的 *Methanocorpusculum labreanum Z*,马尾松人工林的优势菌群包括不可培养的产甲烷古菌 47155118,*Methanosarcina mazei Gol* 和广古菌门的 *Methanocorpusculum labreanum Z*。把包含 *mcrA* 基因的微生物群落作聚类分析,结果相同林型的样地能聚到一起,5 个湿地松样地中的 3 个以及 5 个马尾松人工林的 3 个都能分别聚到一起(图 2)。

包含 *mcrA* 基因的微生物群落可以分两个类。第一类中信号强度最强的是广古菌门的 *Methanocorpusculum labreanum*,能在两种林型的样地中都能找到,属于优势菌种。第 1 类基因在湿地松人工林中分布较多,在马尾松人工林林中分布较少,但是其信号强度在两种林型中无显著差异。第 2 类主要在马尾松人工林土壤中出现,在湿地松人工林土壤中出现较少,其中,不可培养的古菌 *GZfos*17*A*3 只在马尾松人工林检测到;不可培养的古菌 46389797 在湿地松人工林的两个样地中出现,马尾松人工林的信号强度显著高于湿地松人工林。

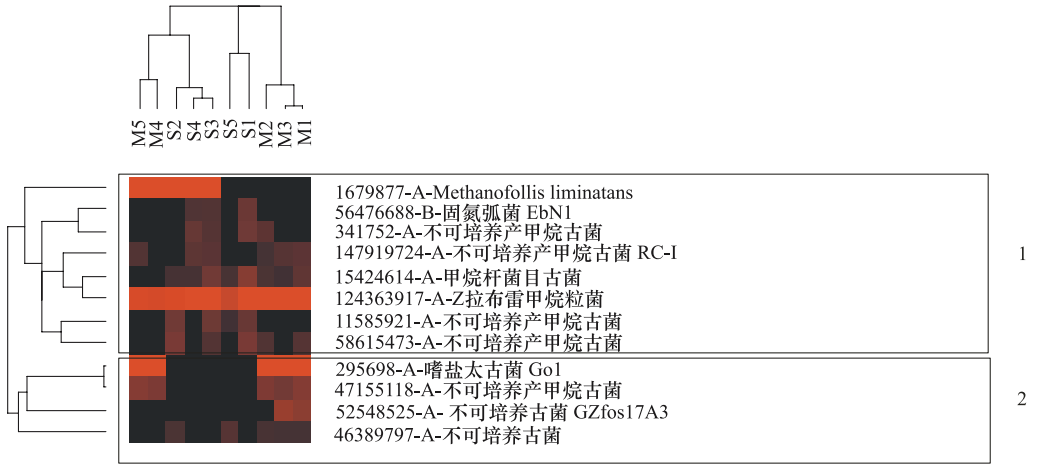

图 2 两种林型的 *mcrA* 基因聚类分析

Fig. 2 Cluster analysis of *mcrA* genes under two forest restoration types

S1—S5 为湿地松人工林的 5 个样地,M1—M5 为马尾松人工林的 5 个样地; 灰色表示信号强度为 0,红色表示信号强度的大小,颜色越深,信号强度越大;数字表示基因库(NCBI)登录号,数字后面的字母 A 表示古菌,B 表示细菌,字母后面的描述表示微生物的种类;图右侧的数字为根据基因的分组

2.4 两种林型中甲烷营养菌(包含 *pmoA* 基因的微生物)的群落结构

10 个样地中所检测到的包含 *pmoA* 基因的微生物都属于细菌,以不可培养细菌占优势。两种林型的包含 *pmoA* 基因的微生物群落结构存在明显不同($P = 0.068$),林型解释了包含 *pmoA* 基因的微生物群落结构 23.1% 的变异(表 2)。不可培养细菌 5982474、1561452 和 1434169 只在湿地松人工林检测到,在马尾松人工林中未检测到。*pmoA* 基因的信号强度聚类表明,相同林型的样地能聚到一起,5 个湿地松人工林的样地,有 4 个能聚在一起(图 3)。

在包含 *pmoA* 基因的微生物群落中(图 3),第 1 类微生物都为不可培养细菌,其在湿地松中的信号强度是马尾松人工林的 2.10 倍,但由于样地之间存在很大的变异,林型间的 *pmoA* 基因的信号强度差异不显著($P = 0.07$)。第 2 类包含的微生物种类较多,其中不可培养细菌 46392666 和 341782 和 *Nocardioides* sp. *JS*614 是优势菌群,在两种林型间的信号强度无显著差异。第 3 类属于不可培养Ⅱ型的甲烷营养菌,在两种林型的每个样地中都能检测到,并且信号强度最高,在两种林型间的信号强度无显著差异。第 4 类(厚壁菌门 *Firmicutes* 的 341784 和不可培养的 *alpha* 变型菌门的 588266)在湿地松人工林的信号强度显著高于马尾松人工林。

2.5 甲烷代谢基因与环境因子之间的关系

如表 3 所示,*mcrA* 基因丰度或同源基因数量与土壤容重正相关($P<0.1$),与土壤粘粒含量呈显著负相关($P<0.05$);与全磷含量、有效氮含量和土壤含水量相关不显著($P>0.1$)。*pmoA* 基因信号强度或基因多样性与土壤全碳、全磷和速效氮含量显著正相关($P<0.05$);与土壤容重、含水量和粘粒含量相关不显著($P>0.1$)。

表 3 甲烷代谢基因多样性与环境因子之间的相关系数($n=10$)

Table 3 Correlation coefficients among methane metabolism genes and environmental factors ($n=10$)

相关系数 Correlation coefficients	容重 Bulk density	粘粒含量 Clay content	全碳含量 Total carbon content	全磷含量 Total phosphorus content	有效氮含量 Available nitrogen content	含水量 Moisture
mcrA genes	0.559 *	−0.670 **	0.634 **	ns	ns	ns
pmoA genes	ns	ns	0.641 ** (0.684 **) 0.654 ** (0.681 **)	0.734 ** (0.698 **)		ns

表中数字为与基因信号强度之间的相关系数,加粗的字体表示与基因种类的相关系数;括号内的数字表示与基因多样性之间的相关系数; ns 表示相关不显著($P>0.1$), * 表示存在强烈的相关趋势($0.05<P<0.1$), * * 表示显著相关($P<0.05$)

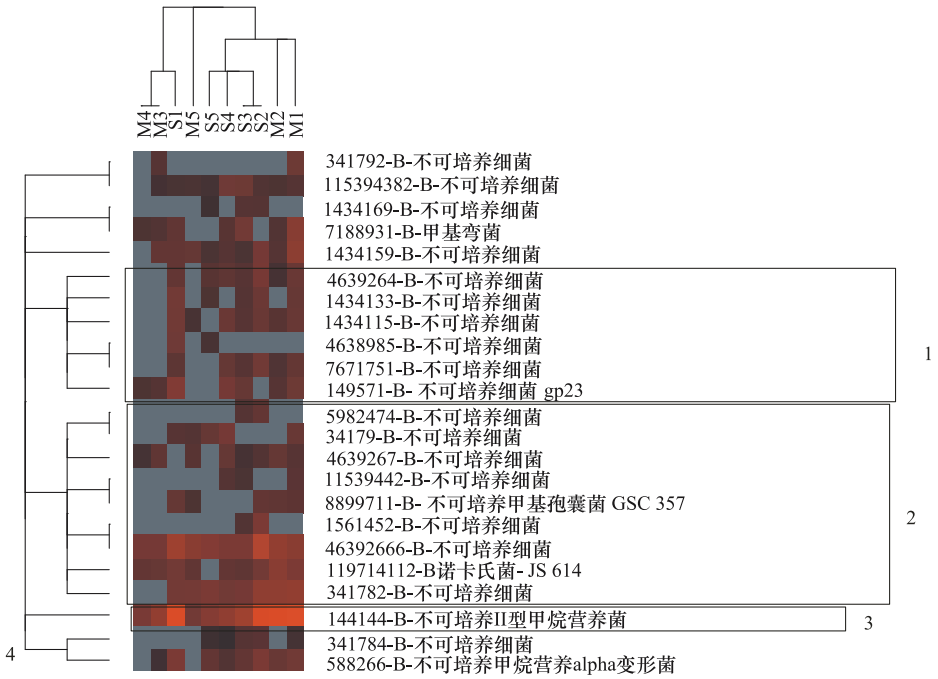

图 3　两种林型的 *pmoA* 基因聚类分析

Fig. 3　Cluster analysis of *pmoA* genes under two forest restoration types

S1—S5 为湿地松人工林的 5 个样地,M1—M5 为马尾松人工林的 5 个样地;灰色表示信号强度为 0,红色表示信号强度的大小,颜色越深,信号强度越大;数字表示基因库(NCBI)登录号,数字后面的字母 B 表示细菌,字母后面的描述表示微生物的种类; 图左侧和右侧的数字为根据信号强度的分组

3　讨论

3.1　产甲烷菌的群落结构

由于甲烷是在厌氧条件下产生的,森林土壤中的产甲烷菌的 *mcrA* 基因很少有研究。本研究中包含 *mcrA* 基因产甲烷菌的信号强度在两种林型没有显著差异,但是群落结构存在显著差异(表 1,图 1,表 2)。*Methanosarcina mazei Gol* 所属的甲烷八叠球菌属 *Methanosarcina* 在酸性泥炭地中是优势菌[21]。本研究中 *Methanosarcina mazei Gol* 只在马尾松人工林检测到,并且丰度较高,而在湿地松人工林中未检测到(图 2)。这可能与所研究的马尾松人工林样地的土壤 pH 值显著低于湿地松人工林有关(表 1)。优势菌对于甲烷产生的影响需要进一步采用结合同位素标记方法或者 RNA 技术来进一步确定。

3.2　甲烷营养菌的群落结构

本研究中甲烷氧化基因 *pmoA* 和 *mmox* 在两种林型的信号强度没有显著差异,但是群落结构存在显著差异(图 1,表 2)。Zheng 等[7]研究表明,退化区的甲烷营养菌的数量显著低于恢复区和农作区,并且其群落结构存在明显不同。Knief[23]等研究表明林地土壤甲烷氧化速率高于农田土壤,并且其群落结构也存在明显不同。林地比草地是更大的甲烷汇;自然地是比人工管理地更大的甲烷汇[24]。这可能与本研究的对象都为人工林,两种人工林之间的差异小于以上研究对像间的差异引起的。尽管差异并未达到显著水平,湿地松人工林的甲烷营养菌的种类、丰度和多样性都明显高于马尾松人工林。林型解释了甲烷营养菌 23.1% 的群落变异,这种变异主要体现在种类上的差别。

在甲烷氧化基因中,更多的 *pmoA* 基因而非 *mmox* 基因被检测到。这是因为 *pmoA* 基因更具普适性[7]。甲烷营养菌据生理特征可分为三类:Ⅰ型,Ⅱ型和Ⅹ型,其中Ⅰ型和Ⅹ型,通过核酮糖单磷酸途径同化甲醛为自身生物量;而Ⅱ型则通过丝氨酸途径同化甲醛[1]。本研究中,不可培养的 II 型甲烷菌 144144 在两种林型的 10 个样地中都能检测到,并且丰度最高(图 3),不可培养细菌占甲烷营养菌种类的多数。尽管 II 型甲烷营养菌容易出现在甲烷含量较高,低氧、低氮和(或)低铜的环境中[1],如水稻土[3],Ⅱ型甲烷营养菌也是新西兰的

外来种辐射松林地中的优势菌[6]。而 Zheng 等[7]研究表明 I 型甲烷营养菌(包含 *pmoA* 基因)是旱地红壤的优势菌。这可能与本研究中土壤氮素含量(表 1)显著低于其研究地的土壤氮素有关[1,7]。由于大部分甲烷营养菌为不可培养细菌,不同林型甲烷氧化优势菌对于甲烷氧化速率的影响需要进一步采用结合同位素标记方法或者 RNA 技术来进一步确定。

3.3 甲烷代谢基因与土壤性质之间的关系

本研究中 *mcrA* 基因丰度与土壤容重呈明显的正相关趋势(表 3)。这可能是因为较大的土壤容重,造成较小的土壤孔隙度,进而促进了产甲烷基因丰度的提高。*mcrA* 基因丰度与土壤粘粒含量显著负相关(表 3)。Sass 和 Fisher[25]研究表明粘粒含量高的土壤甲烷释放较少。*mcrA* 的基因种类数与土壤全碳含量存在显著正相关关系(表 3),可能是包括乙酸在内的土壤碳为甲烷的产生提供了底物引起的。

pmoA 基因多样性与土壤全磷含量之间呈相关关系(表 3)。Zheng 等[7]认为 Ⅰ 型甲烷营养菌与土壤速效磷含量呈显著正相关关系。这可能与土壤营养元素为甲烷营养菌的产生提供了基质引起的。Meta 分析表明,旱地甲烷营养菌处于氮限制状态[24],这也就很容易的解释了 *pmoA* 基因多样性与土壤速效氮含量之间呈显著正相关关系(表 3)。*pmoA* 基因多样性与土壤全碳、全氮和全磷含量之间显著正相关。这表明湿地松人工林和马尾松人工林中,氮肥和磷肥施用可能利于土壤甲烷营养菌的增加,从而利于增加森林土壤中的甲烷汇的作用。

本文采用功能基因芯片 GeoChip 3.0 研究了林型对甲烷代谢基因多样性的影响。结果表明湿地松人工林和马尾松人工林两种林型的甲烷代谢微生物群落结构存在极显著差异,林型解释了其变异的 34.9%。两种林型包含产甲烷菌的优势菌不同,湿地松人工林的的优势菌为 *Methanocorpusculum labreanum Z*,马尾松人工林的优势菌群除 *Methanocorpusculum labreanum* Z 外,还包括产甲烷古菌、*Methanosarcina mazei Gol*。甲烷营养菌的优势菌为Ⅱ型,有 3 种不可培养细菌只在湿地松人工林检测到,在马尾松人工林中未检测到。总之,相比本地种马尾松人工林,引进种湿地松人工林土壤甲烷代谢微生物群落结构发生了显著变化。*pmoA* 基因信号强度或多样性指数与土壤全碳含量、速效氮含量和全磷含量之间显著正相关。

References:

[1] Hanson R S, Hanson T E. Methanotrophic bacteria. Microbiological Reviews, 1996, 60(2): 439-471.

[2] Lowe D C. Global change: a green source of surprise. Nature, 2006, 439(7073): 148-149.

[3] Zheng Y, Zhang L M, Zheng Y M, Di H J, He J Z. Abundance and community composition of methanotrophs in a Chinese paddy soil under long-term fertilization practices. Journal of Soils and Sediments, 2008, 8(6): 406-414.

[4] Yang Q B, Fan F L, Wang W X, Liang Y C, Li Z J, Cui X A, Wei D. Effects of different long-term fertilizations on community properties and functions of methanotrophs in dark brown soil. Chinese Journal of Environmental Science, 2010, 31(11): 2756-2762

[5] Zhou X Q, Wang Y F, Huang X Z, Tian J Q, Hao Y B. Effect of grazing intensities on the activity and community structure of methane-oxidizing bacteria of grassland soil in Inner Mongolia. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2008, 80(2): 145-152.

[6] Singh B K, Tate K R, Ross D J, Singh J, Dando J, Thomas N, Millard P, Murrell J C. Soil methane oxidation and methanotroph responses to afforestation of pastures with *Pinus radiata* stands. Soil Biology and Biochemistry, 2009, 41(10): 2196-2205.

[7] Zheng Y, Liu X Z, Zhang L M, Zhou Z F, He J Z. Do land utilization patterns affect methanotrophic communities in a Chinese upland red soil? Journal of Environmental Sciences, 2010, 22(12): 1936-1943.

[8] Singh B K, Tate K. Biochemical and molecular characterization of methanotrophs in soil from a pristine New Zealand beech forest. FEMS Microbiology Letters, 2007, 275(1): 89-97.

[9] Menyailo O V, Hungate B A, Abraham W R, Conrad R. Changing land use reduces soil CH_4 uptake by altering biomass and activity but not composition of high-affinity methanotrophs. Global Change Biology, 2008, 14(10): 2405-2419.

[10] Liu D Y, Ding W X. Progress on spatial variation of methanogens and their influencing factors in natural wetlands. Scientia Geographica Sinica, 2011, 31(2): 136-142.

[11] Ren H, Shen W J, Lu H F, Wen X Y, Jian S G. Degraded ecosystems in China: status, causes, and restoration efforts. Landscape and Ecological Engineering, 2007, 3(1): 1-13.

[12] Ren H, Liu Q, Li L H. Introduction to Restoration Science. Beijing: Science Press, 2001.

[13] He Z L, Deng Y, Van Nostrand J D, Tu Q C, Xu M Y, Hemme C L, Li X Y, Wu L Y, Gentry T J, Yin Y F, Liebich J, Hazen T C, Zhou J Z. GeoChip 3.0 as a high-throughput tool for analyzing microbial community composition, structure and functional activity. The ISME Journal, 2010, 4(9): 1167-1179.

[14] Reeve J R, Schadt C W, Carpenter-Boggs L, Kang S, Zhou J Z, Reganold J P. Effects of soil type and farm management on soil ecological functional genes and microbial activities. The ISME Journal, 2010, 4(9): 1099-1107.

[15] Tian D L, Xiang W H, Yan W D. Comparison of biomass dynamic and nutrient cycling between *Pinus massomiana* plantation and *Pinus elliottii* plantation. Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(10): 2207-2210.

[16] Meyer C K, Baer S G, Whiles M R. Ecosystem recovery across a chronosequence of restored wetlands in the Platte River valley. Ecosystems, 2008, 11(2): 193-208.

[17] Saetre P, Bååth E. Spatial variation and patterns of soil microbial community structure in a mixed spruce-birch stand. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32(7): 909-917.

[18] Bao S D. Soil and Agricultural Chemical Analysis. Beijing: China Agricultural Press, 2000.

[19] Peršoh D, Theuerl S, Buscot F, Rambold G. Towards a universally adaptable method for quantitative extraction of high-purity nucleic acids from soil. Journal of Microbiological Methods, 2008, 75(1): 19-24.

[20] He Z L, Xu M Y, Deng Y, Kang S, Kellogg L, Wu L Y, Van Nostrand J D, Hobbie S E, Reich P B, Zhou J Z. Metagenomic analysis reveals a marked divergence in the structure of belowground microbial communities at elevated CO_2. Ecology Letters, 2010, 13(5): 564-575.

[21] Steinberg L M, Regan J M. *mcrA*-targeted real-time quantitative pcr method to examine methanogen communities. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(13): 4435-4442.

[22] Shannon C E. A mathematical theory of communication. Acm Sigmobile Mobile Computing and Communications Review, 2001, 5(1): 1-54.

[23] Knief C, Vanitchung S, Harvey N W, Conrad R, Dunfield P F, Chidthaisong A. Diversity of methanotrophic bacteria in tropical upland soils under different land uses. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(7): 3826-3831.

[24] Aronson E L, Helliker B R. Methane flux in non-wetland soils in response to nitrogen addition: a meta-analysis. Ecology, 2010, 91(11): 3242-3251.

[25] Sass R L, Fisher F M. CH_4 emission from paddy fields in the United States gulf coast area// Minami K, Mosier A, Sass R L, eds. CH_4 and N_2O Global Emissions and Controls from Rice Fields and Other Agricultural and Industrial Sources. Tokyo: Yokendo Publishers, 1994: 65-77.

参考文献:

[4] 杨芊葆, 范分良, 王万雄, 梁永超, 李兆君, 崔喜安, 魏丹. 长期不同施肥对暗棕壤甲烷氧化菌群落特征与功能的影响. 环境科学, 2010, 31(11): 2756-2762.

[10] 刘德燕, 丁维新. 天然湿地土壤产甲烷菌及其影响因子研究进展. 地理科学, 2011, 31(2): 136-142.

[12] 任海, 刘庆, 李凌浩. 恢复生态学导论. 北京: 科学出版社, 2001.

[15] 田大伦, 项文化, 闫文德. 马尾松与湿地松人工林生物量动态及养分循环特征. 生态学报, 2004, 24(10): 2207-2210.

[18] 鲍士丹. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2000.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 32, No. 8 April, 2012 (Semimonthly)

CONTENTS

Physiological responses of five deciduous broad-leaved tree seedlings in the Northeast Area of China to burning ····· WANG Rong, HU Haiqing (2303)
The occurrence regularity of psyllid in *Haloxylon* spp and its influencing factors ····· LI Fenlian, WU Xuehai, WANG Peiling, et al (2311)
The estimating of the spatial distribution of forest biomass in China based on remote sensing and downscaling techniques ····· LIU Shuangna, ZHOU Tao, SHU Yang, et al (2320)
Multivariate correlation analysis between landscape pattern and water quality ····· ZHAO Peng, XIA Beicheng, QIN Jianqiao, et al (2331)
Red fox habitat selection and landscape feature analysis in the Dalai Lake Natural Reserve in Inner Mongolia ····· ZHANG Honghai, LI Chengtao, DOU Huashan, et al (2342)
Research on assemblage characteristics of macroinvertebrates in the Yalu Tsangpo River Basin ····· XU Mengzhen, WANG Zhaoyin, PAN Baozhu, et al (2351)
Climate change induced potential range shift of the crested ibis based on ensemble models ····· ZHAI Tianqing, LI Xinhai (2361)
Analysis of the sources of second generation meadow moth populations that immigrated into Chinese pastoral areas in 2010 ····· ZHANG Li, ZHANG Yunhui, ZENG Juan, et al (2371)
Genetic diversity based on cytochrome *b* gene analysis of different geographic populations of blue sheep in China ····· LI Nannan, LIU Zhensheng, WANG Zhenghuan, et al (2381)
Soil microbial properties under different grain-for-green patterns in depressions between karst hills ····· LU Shiyang, PENG Wanxia, SONG Tongqing, et al (2390)
Ecosystem and soil respiration of a poplar plantation on a sandy floodplain in Northern China ····· FANG Xianrui, ZHANG Zhiqiang, ZHA Tonggang, et al (2400)
Estimating total nitrogen content in water body based on reflectance from wetland vegetation ····· LIU Ke, ZHAO Wenji, GUO Xiaoyu, et al (2410)
Analysis on complete F type of mitochondrial genome in *Lamprotula leai* ····· CHEN Ling, WANG Guiling, LI Jiale (2420)
The source-sink landscape pattern change and its effect on phosphorus pollution in Yuqiao watershed ····· LI Chongwei, HU Jie, WANG Sa, et al (2430)
Responses of soil nematode communities to soluble salt contamination around Gangue hill in Fushun ····· ZHANG Weidong, LV Ying, XIAO Ying, et al (2439)
Effect of aboveground competition on biomass partitioning of understory Korean pine (*Pinus koraiensis*) ····· WANG Jinsong, FAN Xiuhua, FAN Juan, et al (2447)
Research of methane metabolic microbial community in soils of slash pine plantation and Masson pine plantation ····· WANG Yun, ZHENG Hua, CHEN Falin, et al (2458)
$\delta^{13}C$ values of stem phloem water soluble sugars of *Pinus massoniana* and *Cunninghamia lanceolata* response to meteorological factors ····· LU Yuxi, WANG Zhenxing, ZHENG Huaizhou, et al (2466)
Soil respiration patterns during restoration of vegetation in the Shapotou area, Northern China ····· GAO Yanhong, LIU Lichao, JIA Rongliang, et al (2474)
Dynamics of caloric value of *Robinia pseudoacacia* L. energy forest in the west of Henan Province ····· TAN Xiaohong, LIU Shiqi, MA Luyi, et al (2483)
Ex-situ symbiotic seed germination of *Dendrobium catenatum* ····· WU Huifeng, SONG Xiqiang, LIU Hongxia (2491)
Effects of red/far red ratio on morphological index, leaf area and dry matter partitioning of cut chrysanthemum flower ····· YANG Zaiqiang, ZHANG Jibo, LI Yongxiu, et al (2498)
Effect of prometryne on root activity and oxidative stress of *Polygala tenuifolia* Willd. seedling roots ····· WEN Yinyuan, GUO Pingyi, YIN Meiqiang, et al (2506)
Combined effects of elevated O_3 concentration and UV-B radiation on photosynthetic characteristics of soybean ····· ZHENG Youfei, XU Weimin, WU Rongjun, et al (2515)
Nutrients transfer for host plant and litter decompositon by AMF in Karst soil ····· HE Yuejun, ZHONG Zhangcheng, DONG Ming (2525)
The dynamics of bacteria community diversity during the fermentation process of traditional soybean paste ····· GE Jingping, CHAI Yangyang , CHEN Li, et al (2532)
Effect of site-specific fertilization on soil phosphorus in purple garden soil ····· SUN Qianqian, WANG Zhengyin, ZHAO Huan, et al (2539)
A method of determining standards for ecological compensation in agricultural areas, giving priority to environmental flows in water allocation ····· PANG Aiping, SUN Tao (2550)
The loss of ecosystem services value caused by food security assessment model and it's application ····· LU Weiye, JIANG Zhide, ZHANG Yinglong, et al (2561)

Review and Monograph

Review of the current situation of coastal ecological engineering using dredged marine sediments and prospects for potential application in China ····· HUANG Huamei, GAO Yang, WANG Yinxia, et al (2571)

Discussion

Quorum sensing in anaerobic ammonium oxidation bacteria ····· DING Shuang, ZHENG Ping, ZHANG Meng, et al (2581)
Health evaluation of Dongting Lake based on morphological characters ····· SHUAI Hong, LI Jingbao, XIA Beicheng, et al (2588)

Scientific Note

Effects of mix-leaf litter decomposition of different trees in the Loess Plateau ····· LIU Zengwen, DU Liangzhen, ZHANG Xiaoxi, et al (2596)
Changes in soil active organic carbon under different management types of bamboo stands ····· MA Shaojie, LI Zhengcai, WANG Bin, et al (2603)
Effects of drought stress on photosynthesis and associated physiological characters of pepper ····· OU Lijun, CHEN Bo, ZOU Xuexiao (2612)
Effects of silicon application and drought stress on photosynthetic traits and mineral nutrient absorption of rice leaves ····· CHEN Wei, CAI Kunzheng, CHEN Jining (2620)

《生态学报》2012 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的自然科学高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 70 元/册,全年定价 1680 元。

国内邮发代号:82-7　国外邮发代号:M670　标准刊号:ISSN 1000-0933　CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址: 100085 北京海淀区双清路 18 号　**电　　话**: (010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@ rcees. ac. cn　**网　　址**: www. ecologica. cn

编辑部主任　孔红梅　　**执行编辑**　刘天星　段　靖

生　态　学　报
(SHENGTAI　XUEBAO)
(半月刊　1981 年 3 月创刊)
第 32 卷　第 8 期　(2012 年 4 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 32　No. 8　2012

编　　辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www. ecologica. cn shengtaixuebao@ rcees. ac. cn
主　　编	冯宗炜
主　　管	中国科学技术协会
主　　办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085
出　　版	科学出版社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:1R00717
印　　刷	北京北林印刷厂
发　　行	科学出版社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@ cspg. net
订　　购	全国各地邮局
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044
广告经营许可证	京海工商广字第 8013 号

Edited	by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www. ecologica. cn Shengtaixuebao@ rcees. ac. cn
Editor-in-chief		FENG Zong-Wei
Supervised	by	China Association for Science and Technology
Sponsored	by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
Published	by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
Distributed	by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@ cspg. net
Domestic		All Local Post Offices in China
Foreign		China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China

ISSN 1000-0933　CN 11-2031/Q　国内外公开发行　国内邮发代号 82-7　国外发行代号 M670　定价 70.00 元