DOI: 10.5846/stxb201801110084
吴求生,龙健,李娟,廖洪凯,刘灵飞,吴劲楠,肖雄.茂兰喀斯特森林小生境类型对土壤微生物群落组成的影响.生态学报,2019,39(3): - .
Wu Q S, Long J, Li J, Liao H K, Liu L F, Wu J N, Xiao X.Effects of different microhabitat types on soil microbial community composition in the Maolan Karst Forest in Southwest China.Acta Ecologica Sinica,2019,39(3): - .

茂兰喀斯特森林小生境类型对土壤微生物群落组成的影响

吴求生[1],龙　健[1,*],李　娟[2],廖洪凯[1],刘灵飞[1],吴劲楠[1],肖　雄[1]
1 贵州师范大学贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室,贵阳　550001
2 贵州师范大学地理与环境科学学院,贵阳　550001

摘要:喀斯特山区是我国典型的生态脆弱区,区内分布复杂多样的小生境类型(石洞、石缝、石沟、石槽、土面等)。土壤微生物是陆地生态系统最活跃的成分,推动着生态系统能量流动和物质循环。研究不同小生境类型对土壤微生物群落组成的影响,对于喀斯特山区森林土壤微生物特征的认识和生态保护具有积极的意义。以贵州茂兰喀斯特森林小生境为对象,对其土壤理化性质和微生物组成进行了比较分析,并对小生境类型进行了数量聚类。结果表明:6 种小生境土壤中共检测到 48 种磷脂脂肪酸(PLFA),其中,标记土壤微生物的特征 PLFA 有 18 种;土壤微生物总量、细菌、真菌、放线菌、G^+、G^-的含量均表现为石槽>石沟>土面表层>石洞>石缝>土面下层,同时,各微生物类型的含量在不同生境类型中表现为细菌>放线菌>真菌;G^+/G^-在六种生境中表现为石槽>石沟>土面表层>石缝>石洞>土面下层;真菌/细菌变幅为 0.14—0.16,具体表现为土面表层>石缝>石沟>石槽>石洞>土面下层;相关性分析和多元回归树分析显示,不同小生境类型的土壤有机质是影响土壤微生物群落组成的首要因子。聚类结果表明,小生境可划分为石槽—石沟型、石洞—石缝型、土面表层型以及土面下层型 4 种生境类型。研究结果证实了不同小生境类型对微生物分布特征存在显著影响。

关键词:茂兰;喀斯特小生境;土壤微生物群落结构;多元回归树;聚类

Effects of different microhabitat types on soil microbial community composition in the Maolan Karst Forest in Southwest China

WU Qiusheng[1], LONG Jian[1,*], LI Juan[2], LIAO Hongkai[1], LIU Lingfei[1], WU Jingnan[1], XIAO Xiong[1]
1 *Key Laboratory for Information System of Mountainous Areas and Protection of Ecological Environment of Guizhou Province, Guizhou Normal University, Guiyang* 550001, *China*
2 *Department of Geography and Environment Science, Guizhou Normal University, Guiyang* 550001, *China*

Abstract: Karst mountain areas are typically known as ecologically fragile areas in China. There are a variety of microhabitats that are distributed over the area, including stone grooves, stone gulls, top-soils, stone caverns, and stone crevices. Soil microorganisms are the most active components of terrestrial ecosystems, and they promote energy flow and material circulation through the ecosystem. Studies that examine the impact of different types of microhabitats on the composition of soil microbial communities have great significance for the better understanding of the microbial characteristics of karst forest in mountain area and the karst ecological protection. With the Maolan Karst Forest microhabitats as the research subjects, this study comparatively analyzed soil physical and chemical properties and microbial composition, and it quantitatively clustered the microhabitats. The results showed that 48 phospholipid fatty acids (PLFAs) were detected in the

基金项目:国家自然科学基金(41661045,41461072,41601249); 黔科合平台人才[2018]5609
收稿日期:2018-01-11;　　**网络出版日期**:2018-00-00
* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: longjian22@163.com

soils of six microhabitat types, and among these, there were 18 unique PLFAs that characterized microbes. The contents of total microbes, bacteria, fungi and actinomycetes, G+, and G- in all microhabitat types were in the following order: stone groove > stone gully > top-soil > stone cavern > stone crevice > sub-soil. Moreover, the microbial contents in all habitats were in the following order: bacteria > actinomycetes > fungi. The values of G+/G- in all habitats were as follows: stone groove > stone gully > top-soil > stone crevice > stone cavern > sub-soil. The ratios of fungi/bacteria ranged from 0.14 to 0.16, and the ratios were ordered as follows: top-soil > stone crevice > stone gully > stone groove > stone cavern > sub-soil. Correlation and Multivariate Regression Tree (MRT) analyses showed that soil organic matter from a different microhabitat was the primary factor affecting soil microbial community composition. The results of MRT clustering showed that the karst forest microhabitat can be divided into four types: stone groove-stone gully type, stone cavern-stone crevice type, top-soil type, and sub-soil type. The results confirmed that microhabitat types had significant impacts on soil microbe distribution in the karst forest.

Key Words: Maolan; Karst microhabitat; microbial community structure; MRT; clustering

微生物是地球最早出现的生命形式,其出现决定了地球演化的方向和进程,推动了土壤的发生和发育[1],不少学者从不同角度、利用不同技术手段对农田及森林土土壤微生物进行了大量研究[2-4],得出一系列成果;土壤微生物参与土壤有机质的分解与积累以及氮、磷等元素的转化过程[1,5],这一系列过程受到多种因素综合影响。研究土壤微生物分布特征与土壤理化性质关系及其对土壤环境变化的响应机制,对进一步明确其生态过程具有重要意义。

喀斯特环境是我国西南山区一个独特的生态环境系统,与黄土、沙漠、寒漠并列为我国四大生态环境脆弱区[6-7]。喀斯特山区地表破碎、土壤浅薄、分层复杂,且大多数土壤留存于地表发育的石缝、石洞、石沟等小生境中,使得喀斯特地区原本有限的土壤资源显得弥足珍贵[8]。近年来,针对喀斯特地区小生境分布的特点,学者们主要围绕小生境土壤理化性质、类别、以及代表性取样方法等进行系统研究,结果表明喀斯特地区小生境土壤理化性质存在极强地空间异质性[9-13]。土壤微生物对环境变化敏感度高,小生境土壤空间异质性以及水热状况的差异,势必对土壤微生物群落结构产生较大影响。然而,目前针对喀斯特地区不同小生境类型是如何影响土壤微生物群落结构及其稳定性的研究,鲜有报道。

茂兰喀斯特原始森林位于贵州省荔波县境内,是目前世界上同纬度地区喀斯特原生性森林分布面积最大的地区,该地区分布着复杂的生境类型,对整个西南喀斯特地区具有较好的代表性。本研究以茂兰保护区原始森林小生境为研究对象,探讨不同小生境类型对土壤微生物群落组成特征的影响,结合多元回归树(Multivariate Regression Tree,MRT)分析方法对小生境类型进行聚类,分析不同小生境间的区别和联系。旨在了解喀斯特地区小生境土壤微生物分布特征及其对土壤环境变化响应机制,为喀斯特山区微生物多样性保护及石漠化防治提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 研究区域概况

贵州荔波茂兰国家级喀斯特自然保护区地处 107°52′—108°05′E,25°09′—25°20′N。年均温度 18.3℃,≥10℃积温 5767.9℃,全年降水量 1320.5 mm,集中分布于 4—10 月;年均相对湿度 8%;年均霜日 7.3 d;全年日照时数 1272.8 h;属中亚热带季风湿润气候,实验区喀斯特森林主要为常绿和落叶种群混生格局,主要树种有:中华蚊母树(*Distylium chinense*)、青冈栎(*Cyclobalanopsis glauca*)、圆果化香(*Platycarya longipes*)、多脉榆(*Ulmus castaneifolia*)、黄连木(*Pistacia chinensis*)、掌叶木(*Handeliodendron bodinieri*)、翅荚香槐(*Cladrastis platycarpa*)、香叶树(*Lindera communis*)等,乔灌层郁闭度达 0.95,群落高度约 8—12 m;区内主要出露岩石为纯质石灰岩和白云岩,与常态地貌相比,生境复杂多样,有石面、石沟、石洞、石槽、石缝、土面等小生境[13-14]。另

外,区内土壤以黑色石灰土为主,土层浅薄不连续,富含有机质及其他营养物质(氮、磷、钾、钙等)[15]。

1.2　采样方法与指标测定

于 2017 年春季进行野外考察并采集土壤样品。因采样区地形为坡度走向形势,为缩小因微地貌等自然条件带来的采样误差,样地的选择以小生境集中程度为前提。为探索喀斯特山区土壤理化性质及微生物在垂直水平上的特点,特对土面进行分层采集样品,根据为土壤颜色分层,把土面厚度约为 0—10 cm 的土层约定为土面表层,厚度为约 10—20 cm 的土层约定为土面下层,石沟、石槽、石洞等生境的土壤浅薄,无明显分层现象,因此未对此类生境土壤分层采集。共选取 3 个样方(20 m×20 m),每个样方 6 类小生境:石沟、石洞、石槽、石缝、土面表层(top-soil,约为 0—10 cm)、土面下层(sub-soil,约 10—20 cm),每个类型采 3—5 个土样,共采集 69 个小生境土样。每个样方同类型生境土壤均匀混合,最后共计 18 个样品。用无菌袋封装 20g 左右,用于测定磷脂脂肪酸(带回实验室后,充分混匀无菌袋中土样,过 2 mm 筛,混匀,以四分法取样,一周内测),其余样品带回实验室后,分成两部分,一部分土样自然风干,用于测土壤总碳、总氮及 pH 等指标;一部分保存在 4℃冰箱备用。

土壤总碳、总氮采用元素分析仪 Vario micro cube(Elementar)测定:风干土样,过 0.149 mm 尼龙筛,取适量样品置于铝盒中,烘箱 60℃经 8 h 去除水分,冷却,称量 140—160 mg,其中,石槽和石沟土壤碳含量过高,因此称取 40—50 mg,上机测定;有机质测定采用浓硫酸—重铬酸钾外加热法[16];pH 测试采用玻璃电极法。

微生物测定采用磷脂脂肪酸生物标记法[17]:称取适量冷冻干燥土于离心管中,按顺序加入柠檬酸缓冲液、氯仿、甲醇;涡旋振荡,遮光振荡 2 h,离心,转移;加入柠檬酸缓冲液、氯仿,振荡,间隔放气,遮光隔夜静置,4℃保存;吸除上层缓冲液(废液),下层氯仿相转移,氮气吹干;萃取(SPE),转移并加入甲醇,氮吹;加甲醇甲苯混合液,溶解磷脂,加氢氧化钾溶液,水浴;加正己烷氯仿混合液、醋酸、去离子水,振荡、离心,将上层有机相转移至小试管;加正己烷氯仿混合液,重复提取,振荡、离心,转移上层有机相至小试管,氮吹干;正己烷溶解磷脂脂肪酸甲酯,转移至 GC 内插管中,上机测(Agilent7890B)。

标记的脂肪酸与土壤微生物对应关系见表 1。磷脂脂肪酸计算用峰面积和内标曲线法[18],内标为 19:0,含量用 nmol/g 表示。

表 1　微生物指示脂肪酸

Table 1　Fatty acids used as indicator of microorganisms

微生物 Microorganism	特征脂肪酸 Specially PLFA	参考文献 References
细菌 Bacteria	15:0, 16:0, 14:0 iso, 15:0 iso, 16:0 iso, 17:0iso, 15:0 anteiso, 17:0 anteiso, 16:1 ω5c, 16:1 ω7c,16:1 ω9c, 17:1ω 8c,18:1 ω5c, 18:1 ω7c,17:0 cyclo ω7c	[19-22]
真菌 Fungus	18:2 ω6c,18:1 ω9c	[19]
放线菌 Actinomycetes	16:0 10-methyl, 17:0 10-methyl	[23]
革兰氏阴性菌 Gram-negative bacterium(G^+)	16:1 ω5c, 16:1 ω7c, 16:1 ω9c, 16:1 ω9c, 17:1 ω8c, 18:1 ω5c, 18:1 ω7c, 17:0 cyclo w7c	[23-24]
革兰氏阳性菌 Gram-positive bacterium(G^-)	14:0 iso, 15: 0iso, 16: 0iso, 17:0 iso, 15:0 anteiso, 17:0 anteiso	[23,25]

i、a、cy、Me 表示异、反异、环丙基和甲基分枝脂肪酸;ω、c 分别表示脂肪端顺式空间构造

1.3　数据处理

主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)对物种变量降维,降维结果被投影在二维坐标上,可清楚地看出物种在样方中分布情况及组成特征,本研究利用 PCA 分析不同小生境类型对土壤微生物特征 PLFA 分布和组成特征的影响。

MRT 以小生境土壤理化因子为分类节点,利用二歧式分割法,将微生物种类和含量定义的生境逐步划分为同质性高的组。每一次划分都是以某一土壤理化因子的某个值将小生境分成两个部分,使得节点左右两组组内小生境微生物差异尽量小,组间差异尽量大,然后对划分出来的小生境以同样方式继续分组,直至分割结

果满足某种条件而终止[26]。MRT 可利用交叉验证对分类结果进行“剪枝”,以得到数量合适的树,“1SE”准则[27—28]是常用于确定树的大小的方法。

实验数据运用 Excel 和 SPSS 22.0 软件进行处理,采用单因素方差分析(one—way ANOVA)和最小显著差异法(LSD)检验各指标在不同类型生境中的差异情况,显著水平设为 $P=0.05$;PCA 分析、MRT 分析分别用 R 语言(https://www.r-project.org)程序包 vegan[29] 和 MVPARTwrap[30] 进行。用 Origin2017 软件和 R 语言作图。

2 结果与分析

2.1 不同小生境类型对土壤理化性质的影响

小生境土壤有机质变化范围在 60—546 g/kg,石槽有机质含量显著高于其他小生境($P<0.05$)(表 2);不同小生境类型土壤 pH 存在较大差异,总体上呈石缝>石洞>石槽>土面表层>石沟>土面下层的趋势;总碳在小生境中呈现规律与有机质一致;石槽总氮含量显著高于石沟,石沟显著高于其他生境;石槽碳氮比显著高于土面下层,与其他生境呈差异不显著。

表 2 小生境土壤理化性质

Table 2 Microhabitat soil properties

小生境 Microhabitats	土壤理化性质 Soil properties				
	pH	有机质 Organic matter/(g/kg)	总碳 Total carbon/%	总氮 Total nitrogen/%	碳氮比 C / N ratio/%
土下 Sub-soil	6.82±0.49a	60.32±22.16a	4.56±1.88a	0.55±0.17a	8.06±0.89a
石缝 Stone crevice	7.56±0.27b	100.10±46.21a	6.69±3.21a	0.75±0.29a	8.73±0.84ab
石洞 Stone cavern	7.40±0.12ab	100.69±13.55a	6.33±1.03a	0.74±0.09a	8.62±0.40ab
土表 Top-soil	6.90±0.18a	120.45±15.57a	6.94±0.57a	0.74±0.04a	9.36±0.57ab
石沟 Stone gully	6.86±0.41a	166.20±24.11a	10.33±1.29a	1.11±0.08b	9.33±0.73ab
石槽 Stone groove	6.99±0.09a	546.51±207.58b	28.17±7.51b	2.98±0.21c	10.10±2.05b

表中数据为平均值±标准误差,同一列不同小写字母表示小生境间达显著差异水平($P<0.05$)

2.2 不同小生境土壤微生物的 PLFA 分析

2.2.1 不同小生境对土壤 PLFA 种类和总量的影响

6 种小生境中共检测到 48 种 PLFA 生物标记(图 1a),其中,石沟土壤中有 47 种,总含量为(296.45±23.18) nmol/g(图 1b);土面表层有 40 种,总含量为(234.21±22.60) nmol/g;石洞土壤有 44 种,总含量为(206.96±50.18) nmol/g;石缝土壤有 43 种,总含量为(155.74±83.93) nmol/g;石槽土壤有 39 种,总含量为(388.34±73.82) nmol/g;土面下层有 35 种,含量为(127.04±71.81) nmol/g;6 种小生境土壤完全分布的 PLFA 有 30 种,如 14:00、15:00、16:00、14:0 iso、15:0 iso、16:0 iso 等,不完全分布的 PLFA 有 18 种,如 24:00、14:0 iso、21:1 ω8c、21:1 ω3c、22:1 ω3c、23:1 ω4c 等未见分布于土面下层,但在其余生境中均被检测出,17:1 ω8c 仅出现在石槽中,19:1 ω7c 10-methyl 仅出现在石沟中。从图 1b 可知,土面下层 PLFA 含量显著低于土面表层、石沟以及石槽,与石洞、石缝 PLFA 含量差异不显著。

从总体上看,不同生境类型土壤 PLFA 基本以 16:00(细菌)、15:0 iso(革兰氏阳性菌)、16:0 iso(革兰氏阳性菌)、18:1 ω7c(革兰氏阴性菌)、18:1 ω9c(真菌)、19:0 cyclo ω7c(未知)、16:0 10-methyl(放线菌)、18:0 10-methyl(放线菌)等 PLFA 类型为主,这 8 种 PLFA 相对含量占总 PLFA 相对含量的 70%。

2.2.2 不同小生境土壤微生物特征 PLFA 主成分分析

对不同小生境土壤微生物特征 PLFA 进行主成分分析,结果见图 2。第一主轴和第二主轴分别解释土壤特征 PLFA 方差的 52.29%和 25.36%;石槽 PLFA 含量最高,其次是石沟,最后是土面下层,但石缝和土面下层的 16:0 anteiso、18:1 ω5c、18:2 ω6c、16:0 iso、17:0 iso 以及 17:0 anteiso 等特征 PLFA 相对含量高于石沟和石槽。石槽、石缝以及土面下层离坐标原点较远,石沟和土面表层离坐标原点较近。

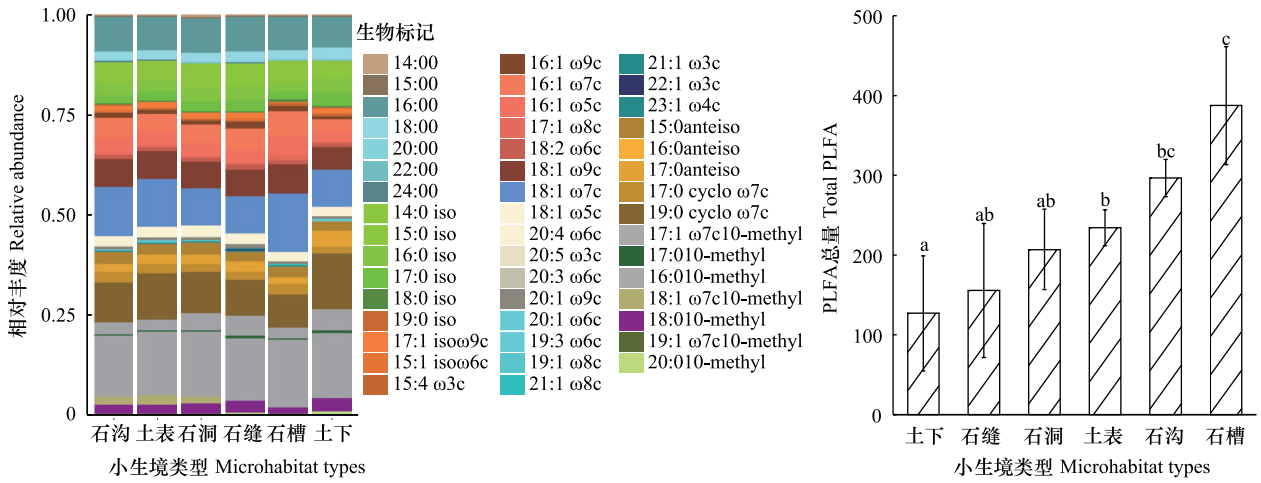

图 1　不同小生境土壤 PLFA 种类(a)和总量统计结果(b)

Fig.1　The type of PLFA (a), and (b) totalcontents in different microhabitats of soil

土表指土面表层(top-soil),土下指土面下层(sub-soil)

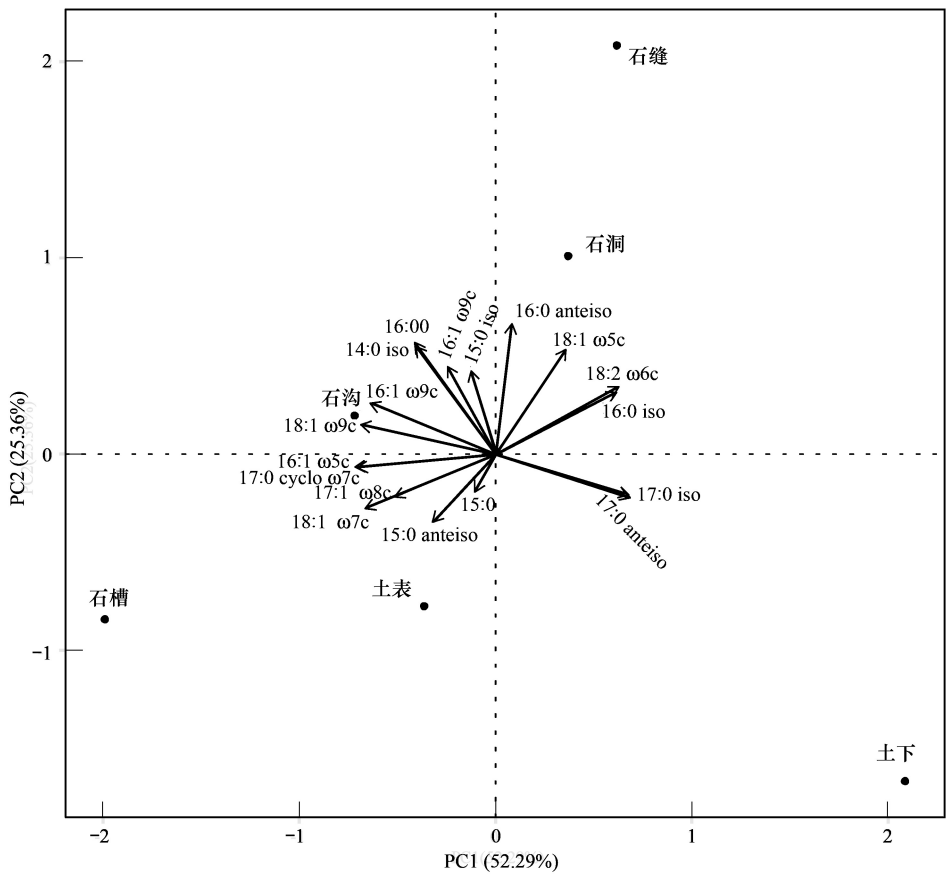

图 2　不同小生境土壤特征 PLFA 的主成分分析

Fig.2　Principal components analysis of specially PLFA in soil of different microhabitats

2.2.3　不同小生境对土壤特征微生物类群 PLFA 含量的影响

石槽土壤微生物总量显著高于其他生境类型($P<0.05$)(图 3a),并且其他生境间两两差异不显著;真菌含量在土面下层、石缝、石洞、土面表层等生境中表现为差异不显著(图 3b),在土面下层、石沟、石槽中表现为

差异显著;放线菌分布规律与真菌类似;细菌分布规律与微生物总量分布一致;土面下层的 G^+ 含量与石缝、石洞及土面表层的土壤 G^+ 含量表现为差异不显著(图 3c),与石沟、石槽表现为差异显著;G^- 在不同生境类型中分布情况与微生物总量、细菌分布规律相同;土面下层的 G^+/G^- 值高于其他生境类型,与石槽、石沟、土面表层及石缝表现为差异显著(图 3d);真菌/细菌变幅为 0.14—0.16(图 3d),具体表现为土面表层>石缝>石沟>石槽>石洞>土面下层,在 6 种生境类型中两两间呈差异不显著。总体上,土壤微生物总量、细菌、真菌、放线菌、G^+、G^- 含量均表现为石槽>石沟>土面表层>石洞>石缝>土面下层。

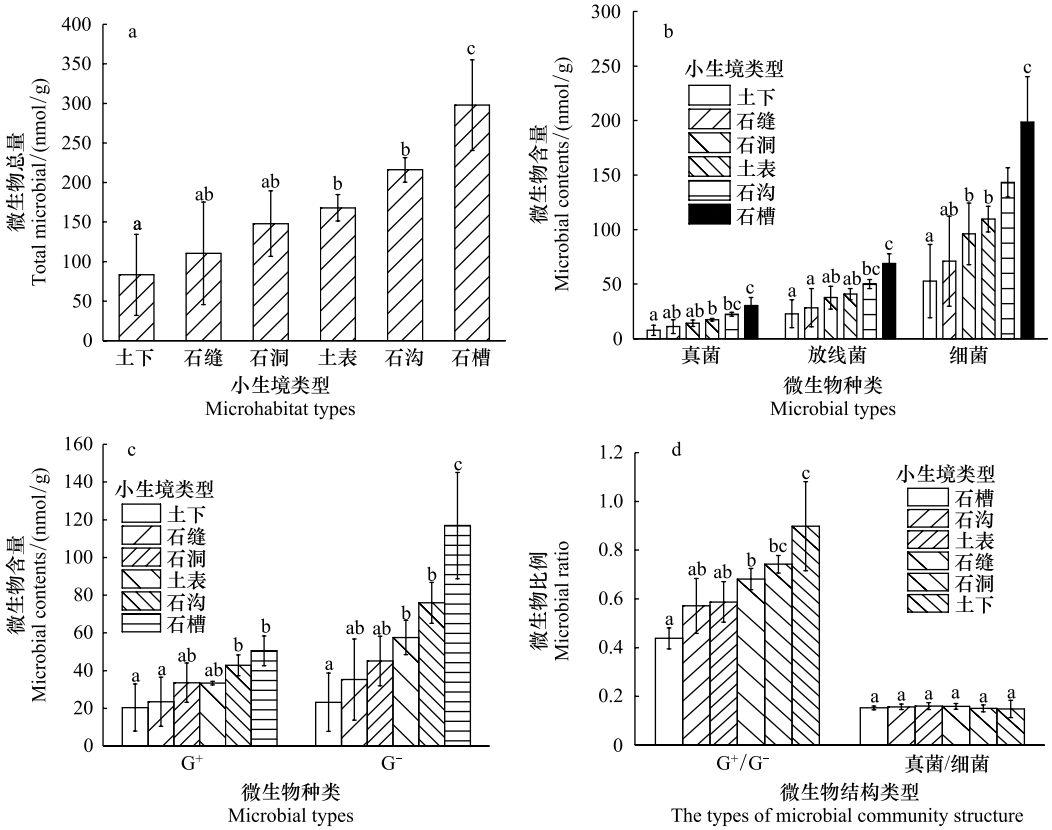

图 3 不同小生境土壤微生物群落结构组成特征

Fig.3 Composition of soil microbial community structure in different microhabitats

2.3 不同小生境土壤微生物与理化因子的相关性

不同小生境土壤微生物及其比值与理化因子相关性分析结果见表 3。

表 3 小生境土壤微生物与理化因子的相关性

Table 3 Correlation coefficients between microbial and factors of soil in microhabitat

理化因子 Factors	微生物种类 Microbialtypes							
	细菌 Bacteria	真菌 Fungi	放线菌 Actinomycete	G^+	G^-	G^+/G^-	真菌/细菌 Fungi/Bactrial	总量 Total content
pH	-0.28	-0.29	-0.26	-0.27	-0.28	0.12	0.003	-0.28
有机质 Organic matter	0.89*	0.88*	0.90*	0.81*	0.92**	-0.77	0.18	0.90*
总碳 Total carbon	0.90*	0.88*	0.90*	0.82*	0.92**	-0.77	0.15	0.90*
总氮 Total nitrogen	0.89*	0.87*	0.89*	0.81*	0.92**	-0.76	0.14	0.89*
碳氮比 C/N ratio	0.94**	0.95**	0.94**	0.90*	0.94**	-0.83*	0.27	0.94**

* 表示 $P<0.05$, ** 表示 $P<0.01$

土壤微生物总量、细菌、真菌、放线菌与有机质、总碳、总氮呈显著正相关($P<0.05$),与碳氮比呈极显著正

相关($P<0.01$);G^+与有机质、总碳、总氮呈显著正相关($P<0.05$),G^-与有机质、总碳、总氮呈极显著正相关($P<0.01$);5 种微生物及其总量均与 pH 呈负相关,但未达到显著水平($P>0.05$);G^+/G^-与 pH 呈正相关,与有机质、总碳、总氮以及碳氮比呈负相关,并且与碳氮比达到显著水平;真菌/细菌与 pH、有机质、总碳、总氮以及碳氮比均呈正相关,但未达到显著水平。

2.4　基于 MRT 分析的小生境类别划分

对回归树进行"剪枝"结果见图 4,18 个小生境被分为 5 组,每组包含小生境个数和类型见表 4。回归树共解释了 76.59%的物种方差,说明回归树模型解释能力较好。节点(1)将 18 个生境分为 2 组(树左右两边),并解释了物种组成方差的 49.76%,有机质作为树第一次划分样点的条件,说明有机质是影响样点分组和微生物分布的首要因子,节点(1)左边组与右边组分别含 5 个、13 个生境,节点(2)以有机质为划分条件对节点(1)右边组 13 个生境进行分组,节点(6)和节点(12)分别以碳氮比和 pH 为划分条件继续对生境分组。基于 MRT 聚类结果,本研究将茂兰喀斯特森林小生境划分为 4 大类,即:石槽—石沟型,石洞—石缝型,土面表层型以及土面下层型。

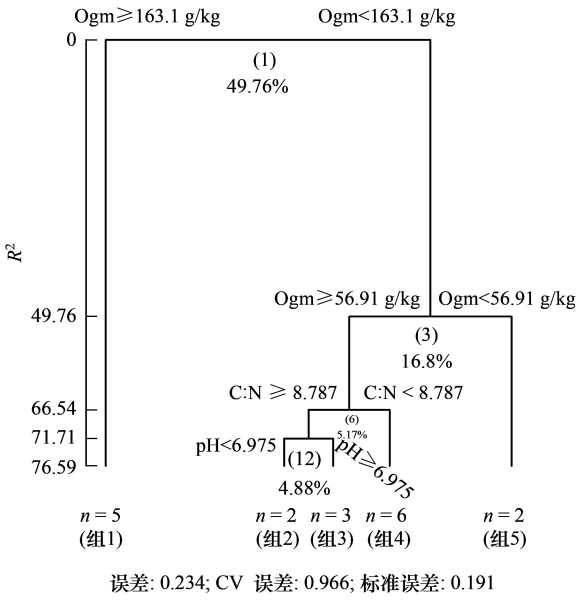

图 4　MRT 分析简要图

Fig.4　A summary tree of the MRT analysis

(1):图中 Ogm:有机质,Organic matter;(2)R^2表示回归树对物种方差解释比例;(3)误差表示回归树不能解释的方差比例;(4)CV 误差表示交叉验证误差;(5):途中带有( )的数字表示节点;(6):节点下方的百分比表示环境因子对该节点中微生物组成方差解释比例;(7):树叶中 n 为小生境个数

表 4　MRT 树叶小生境分组表

Table 4　MRT leaf microhabitat grouping table

组别 Groups	小生境类型 Microhabitat types	组别 Groups	小生境类型 Microhabitat types
组 1Group 1	1、3 号石沟,1、2、3 号石槽	组 4Group 4	1、2 号石洞,2、3 号石缝,2 号石沟,1 号土面下层
组 2Group 2	2、3 号土面表层	组 5Group 5	2、3 号土面下层
组 3Group 3	3 号石洞,1 号石缝,1 号土面表层		

3　讨论

3.1　不同小生境类型对土壤理化性质的影响

西南喀斯特山区溶蚀作用十分强烈,小生境类型多样,土壤性质因小生境环境的不同(光、热和水分条件)存在强烈异质性,且增加了在水平方向上的变异[12]。本研究显示,小生境土壤有机质变化范围在 60—546 g/kg,与刘方[13]等研究结果基本一致;有机质、总碳、总氮含量表现为石槽>石沟>土面表层>石洞>石缝>土面下层,主要由于石槽、石沟、土面表层生境状态较石洞、石缝开放,使植被凋落物和雨水极易累积,凋落物的分解速率受不同小生境水热状况的影响,凋落物的分解是土壤有机质的来源,直接影响土壤有机质的含量[12,31];土壤 pH 在生境中呈石缝>石洞>石槽>土面表层>石沟>土面下层的趋势,这主要是由于石缝、石洞等小生境成土过程以岩石风化为主[13],因此这两种生境类型土壤 pH 较其他生境高;土壤中胡敏酸含量与有机质含量呈正相关,胡敏酸含量越高,土壤 pH 越趋向微酸性[32],本研究中土壤有机质含量最高的石槽、石沟也表现出 pH 较低的特点。

3.2　不同小生境类型对土壤微生物组成的影响

研究显示,茂兰喀斯特森林小生境土壤微生物 PLFA 总量与细菌 PLFA 含量均表现为石槽>石沟>土面表

层>石洞>石缝>土面下层。石沟、石槽及土面表层等生境中的植物根系及凋落物分布较其他生境多,这些物质能改变土壤的碳输入,因此石沟、石槽以及土面表层等生境中土壤微生物获得的碳源更加充沛,碳源充足的生境中,土壤微生物种类和含量较丰富。MRT 分析结果显示,微生物群落组成主要受土壤有机质影响,该结果与吴愉萍对土壤微生物与有机质关系研究结果一致。

真菌和放线菌 PLFA 含量表现为石槽>石沟>土面表层>石洞>石缝>土面下层,而真菌、放线菌与有机质、碳、氮以及碳氮比呈显著正相关。这说明有机质及氮的水平影响着真菌和放线菌的含量。另外,真菌/细菌可用于估算真菌和细菌的相对丰度,其比值的大小可指示微生物群落稳定性[33]。本研究显示,真菌/细菌变幅为 0.14—0.16,其中土面表层的真菌/细菌值最大,说明土面表层的生物群落较其他生境稳定。G^-是复合营养型微生物,G^+是寡营养型微生物[34],G^+/G^-值越大,表明土壤养分越贫瘠。本研究中,G^+/G^-变幅为 0.43—0.87,石槽的比值最小,土面下层最大,说明石槽土壤养分最丰富,土面下层养分最为贫瘠。小生境土壤营养丰富意味着微生物含量亦丰富。

微生物除了参与土壤中元素循环和能量流动外,在岩石溶蚀过程中亦具有重要功能,如微生物分泌胞外聚合物,附着在岩石表明并形成一个特殊的环境,实现矿物的溶出,而岩石溶蚀是喀斯特山区成土的重要方式;另外,生物附着于土壤中可以阻止土壤风化过程的养分淋溶作用,从而使营养元素得以保存,土壤微生物在这一过程中扮演着重要角色[35-36]。这一系列生态过程对喀斯特山区成土理论研究以及土地石漠化治理具有重要现实意义。

3.3 小生境类别划分

本研究将茂兰喀斯特森林小生境划分为石槽—石沟型、石洞—石缝型、土面表层型以及土面下层型,与廖洪凯[12]等使用冗余分析法对贵州喀斯特山区花椒林小生境分类结果较类似,但与刘方[13]等对茂兰喀斯特森林小生境分类研究结果差异较大,在刘方等人的研究中,是以小生境土壤理化因子为变量,基于欧氏距离对小生境聚类;本文运用的 MRT 聚类方法兼顾了小生境土壤微生物和理化因子两种变量,所含信息量大,冗余分析属约束排序范畴,侧重于对物种变量的解释,缺少对样方分类的概念[37]。因此,MRT 聚类结果更为合理;另外,MRT 分组结果显示了不同生境类型组合的情况,可能是因为不同生境类型土壤之间存在过渡性质。

本研究与已有研究对比发现,小生境分类结果差异较大的原因除了所用分类方法不同,还由于不同研究区域小生境外部特征差异较大引起[12-13,38],这种差异给研究者在野外布设样点和采集土样时带来困扰。目前,在针对喀斯特山区土壤的研究中,野外布设样点和土样采集往往忽视了因小生境的存在而使土壤性质存在极为强烈的空间异质性,导致布设的点和采集的样品难具代表性。为此,王世杰[32]等建议以小生境面积权重衡量某个小生境对同类型生境混合土样量的贡献,以提高土壤样品的代表性,该方法具有一定的科学性,但加大了野外工作量;另外,刘方[13]等人提出将土面和石沟的土壤代表喀斯特土壤,但其认为此方案需要深入探讨。本研究运用的 MRT 聚类方法,计算时纳入了土壤理化因子及微生物数据,包含样方信息量较传统聚类方法更加全面,而且能对存在过渡性质的样方进行分类[39]。因此,本研究聚类结果更为合理。从而建议以小生境组合的方式代替单独小生境类型,以供今后在喀斯特山区土壤研究布设样点和土样采集中使用,可以有效地解决上述问题。研究以单因素方差分析法分析土壤环境因子和微生物的组成差异,结果表明理化因子和微生物在土面表层和土面下层未见显著差异,但在 MRT 模型聚类结果中,土面表层和土面下层并未被聚为同组,加之喀斯特山区土壤浅薄不连续、分层不明显等特点,可以初步认为这两类生境的土壤理化因子和微生物极有可能存在较复杂的联系,这方面有待深入研究。

4 结论

本研究表明,贵州茂兰喀斯特森林不同小生境类型土壤理化性质存在显著地空间异质性。小生境土壤理化性质的变化使得微生物群落结构以及群落稳定性层次分明。多元回归树聚类结果表明,小生境可划分为石槽—石沟型、石洞—石缝型、土面表层型以及土面下层型四种生境类型。因此,在今后对喀斯特地区土壤微生

物研究中,应充分利用现代分子生物学等技术手段加深对森林土壤微生物的研究,可在喀斯特山区生物多样性保护及石漠化治理中起到重要作用。

参考文献(References):

[1] 朱永官, 沈仁芳, 贺纪正, 王艳芬, 韩兴国, 贾仲君. 中国土壤微生物组: 进展与展望. 中国科学院院刊, 2017, 32(6): 554-565.

[2] Liao H K, Chapman S J, Li Y Y, Yao H Y. Dynamics of microbial biomass and community composition after short-term water status change in Chinese paddy soils. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25(3): 2232-2941.

[3] 韦莉莉, 卢昌熠, 丁晶, 俞慎. 丛枝菌根真菌参与下植物-土壤系统的养分交流及调控. 生态学报, 2016, 36(14): 4233-4243.

[4] 李新, 焦燕, 代钢, 杨铭德, 温慧洋. 内蒙古河套灌区不同盐碱程度的土壤细菌群落多样性. 中国环境科学, 2016, 36(1): 249-260.

[5] 沈仁芳, 赵学强. 土壤微生物在植物获得养分中的作用. 生态学报, 2015, 35(20): 6584-6591.

[6] 颜萍, 熊康宁, 檀迪, 郭杰, 陈航, 胡晚枚. 喀斯特石漠化治理不同水土保持模式的生态效应研究. 贵州师范大学学报: 自然科学版, 2016, 34(1): 1-7.

[7] 杨明德. 论喀斯特环境的脆弱性. 云南地理环境研究, 1990, 2(1): 21-29.

[8] 刘淑娟, 张伟, 王克林, 陈洪松, 舒世燕, 谭卫宁. 桂西北喀斯特峰丛洼地表层土壤养分时空分异特征. 生态学报, 2011, 31(11): 3036-3043.

[9] 廖洪凯, 龙健, 李娟, 杨江江, 冯业强. 喀斯特地区不同植被下小生境土壤矿物组成及有机碳含量空间异质性初步研究. 中国岩溶, 2010, 29(4): 434-439.

[10] 廖洪凯, 李娟, 龙健. 喀斯特干热河谷植被类型和小生境对土壤活性有机碳和基础呼吸的影响. 土壤通报, 2013, 44(3): 580-586.

[11] 廖洪凯, 龙健, 李娟, 杨江江, 冯业强. 西南地区喀斯特干热河谷地带不同植被类型下小生境土壤碳氮分布特征. 土壤, 2012, 44(3): 421-428.

[12] 廖洪凯, 李娟, 龙健, 张文娟, 刘灵飞. 贵州喀斯特山区花椒林小生境类型与土壤环境因子的关系. 农业环境科学学报, 2013, 32(12): 2429-2435.

[13] 刘方, 王世杰, 罗海波, 刘元生, 刘鸿雁. 喀斯特森林生态系统的小生境及其土壤异质性. 土壤学报, 2008, 45(6): 1055-1062.

[14] 龙健, 李娟, 江新荣, 黄昌勇. 贵州茂兰喀斯特森林土壤微生物活性的研究. 土壤学报, 2004, 41(4): 597-602.

[15] Zhang Z H, Hu B Q, Hu G. Spatial heterogeneity of soil chemical properties in a subtropical karst forest, southwest China. The Scientific World Journal, 2014, 2014: 473651.

[16] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000: 30-33.

[17] White D C, Davis W M, Nickels J S, King J D, Bobbie R J. Determination of the sedimentary microbial biomass by extractible lipid phosphate. Oecologia, 1979, 40(1): 51-62.

[18] 张秋芳, 刘波, 林营志, 史怀, 杨述省, 周先冶. 土壤微生物群落磷脂脂肪酸 PLFA 生物标记多样性. 生态学报, 2009, 29(8): 4127-4137.

[19] Federle T W. Microbial distribution in soil-new techniques. Perspectives in microbial ecology, 1986: 493-498.

[20] Frostegård Å, Bååth E, Tunlio A. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. Soil Biology and Biochemistry, 1993, 25(6): 723-730.

[21] Frostegård Å, Tunlid A, Bååth E. Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(11): 3605-3617.

[22] Tunlid A, Hoitink H A J, Low C, White D C. Characterization of bacteria that suppress *Rhizoctonia* damping-off in bark compost media by analysis of fatty acid biomarkers. Applied and Environmental Microbiology, 1989, 55(6): 1368-1374.

[23] Zogg G P, Zak D R, Ringelberg D B, MacDonald N W, Pregitzer K S, White D C. Compositional and functional shifts in microbial communities due to soil warming. Soil Science Society of America Journal, 1997, 61(2): 475-481.

[24] Ratledge C, Wilkinson S G. Microbial Lipids, vol. 1. London: Academic Press.

[25] Wilkinson S G. 1988. Gram-negative bacteria, p.299-488. In C. Ratledge and S G Wilkinson (ed.), Microbial Lipids.Volume I, Academic Press, London.

[26] 曹铭昌, 周广胜, 翁恩生. 广义模型及分类回归树在物种分布模拟中的应用与比较. 生态学报, 2005, 25(8): 2031-2040.

[27] De'ath G, Fabricius K E. Classification and regression trees: a powerful yet simple technique for ecological data analysis. Ecology, 2000, 81(11): 3178-3192.

[28] Crawley M J. Statistical Computing: An Introduction to Data Analysis Using S-Plus. London: John Wiley, 2002.

[29] Oksanen J, Blanchet F G, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlinn D, Minchin P R, O'Hara R B, Simpson G L, Solymos P, Stevens M H H, Szoecs E, Wagner H. Vegan: community ecology package. R package version 2.4-4 (2017). https://CRAN.R-project.org/package=vegan.

[30] Ouellette M H, Legendre P. MVPARTwrap: Additional features for package mvpart. R package version 0.1-9.2 (2013). https://CRAN.R-project.org/package=MVPARTwrap.

[31] 俞国松, 王世杰, 容丽. 茂兰喀斯特森林演替阶段不同小生境的小气候特征. 地球与环境, 2011, 39(4): 469-477.

[32] 吴愉萍. 基于磷脂脂肪酸(PLFA)分析技术的土壤微生物群落结构多样性的研究[D]. 杭州: 浙江大学环境与资源学院, 2009.

[33] de Vries F T, Hoffland E, van Eekeren N, Brussaard L, Bloem J. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(8): 2092-2103.

[34] Creamer C A, Filley T R, Boutton T W, Rowe H I. Grassland to woodland transitions: dynamic response of microbial community structure and carbon use patterns. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences, 2016, 121(6): 1675-1688.

[35] 朱永官, 段桂兰, 陈保冬, 彭新华, 陈正, 孙国新. 土壤-微生物-植物系统中矿物风化与元素循环. 中国科学: 地球科学, 2014, 44(6): 1107-1116.

[36] 连宾. 碳酸盐岩风化成土过程中的微生物作用. 矿物岩石地球化学通报, 2010, 29(1): 52-56.

[37] Borcard D, Gillet F, Legendre P. 数量生态学-R 语言的应用. 赖江山, 译. 北京: 高等教育出版社, 2014: 90-93.

[38] 王世杰, 卢红梅, 周运超, 谢丽萍, 肖德安. 茂兰喀斯特原始森林土壤有机碳的空间变异性与代表性土样采集方法. 土壤学报, 2007, 44(3): 475-483.

[39] 张文静, 张钦弟, 王晶, 冯飞, 毕润成. 多元回归树与双向指示种分析在群落分类中的应用比较. 植物生态学报, 2015, 39(6): 586-592.