

DOI: 10.5846/stxb201808201766

江聪, 税伟, 简小枚, 陈毅萍, 郭平平. 西南喀斯特退化天坑负地形倒石坡的土壤微生物分布特征. 生态学报, 2019, 39(15): - .

Jiang C, Shui W, Jian X M, Chen Y P, Guo P P. Soil microorganism distribution characteristics of talus slope of negative topography in a degraded karst tiankeng in southwestern China. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(15): - .

西南喀斯特退化天坑负地形倒石坡的土壤微生物分布特征

江 聪¹, 税 伟^{2,*}, 简小枚², 陈毅萍³, 郭平平²

1 福州大学生物科学与工程学院, 福州 350116

2 福州大学环境与资源学院, 福州 350116

3 厦门大学环境与生态学院, 厦门 361102

摘要:喀斯特退化天坑倒石坡作为一种负地形坡面,在退化天坑植物避难所的物种多样性保护中发挥着重要作用。研究坡面土壤微生物群落功能多样性,有助于阐明土壤微生物群落生态特征和空间分布规律,探索土壤微生物与植物多样性关联,挖掘退化天坑负地形倒石坡的生物多样性宝库价值。研究以云南沾益天坑群中的退化天坑-巴家陷塘为研究对象,运用 Biolog 微平板技术,分析坡面环境梯度(坑口、上坡位、中坡位、下坡位以及坑底)的土壤微生物群落功能多样性差异。结果显示,坑底土壤微生物群落的功能多样性指数(Shannon 指数、Simpson 指数、McIntosh 指数)、碳源利用程度均显著高于坑口。下坡位的土壤微生物群落功能多样性略高于坑底,显著高于中坡位,呈现出下坡位>中坡位>上坡位的趋势。坡面土壤微生物群落主要利用的碳源为糖类和氨基酸类。2 个主成分分别解释所有方差变量的 31.9%和 28.7%,能区分不同坡位土壤微生物群落的碳源利用。坑内外草本植物 α 多样性指数差异显著,坑坡木本层植物 α 多样性指数差异显著($P<0.05$),其中下坡位木本层植物多样性最高。 β 多样性指数显示不同坡位的生境具有差异性,但下坡位生境类型最多样。研究发现,喀斯特退化天坑倒石坡的独特负地形和土壤环境孕育了较高的植物多样性和土壤微生物群落功能多样性,二者的空间分布较为一致,未来在退化天坑物种多样性保护中应特别注意倒石坡地下森林资源价值。

关键词:天坑;倒石坡;土壤微生物;功能多样性;分布特征

Soil microorganism distribution characteristics of talus slope of negative topography in a degraded karst tiankeng in southwestern China

JIANG Cong¹, SHUI Wei^{2,*}, JIAN Xiaomei², CHEN Yiping³, GUO Pingping²

1 College of Biological Science and Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350116, China

2 College of Environment and Resources, Fuzhou University, Fuzhou 350116, China

3 College of the Environment and Ecology, Xiamen University, Xiamen 361102, China

Abstract: The negative topographic slopes in a degraded karst tiankeng play an important role in protecting plant diversity. Studying the functional diversity of soil microbial communities on slopes aids in clarifying the ecological characteristics and spatial distribution of soil, to explore the relationship between soil microorganisms and plant diversity, and to assess the biodiversity of degraded karst tiankengs. The degraded tiankeng “Bajiaxiantang” of Zhanyi county in Yunnan Province was selected as the study site. A Biolog MicroPlate was used to analyze the functional diversity of the soil microbial community in the slope environment and how soil microbial community functional diversity varied with gradient (pit, uphill, mid-slope,

基金项目:国家自然科学基金项目(41871198)

收稿日期:2018-08-20; 网络出版日期:2019-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: shuiweiman@163.com

downhill, and pit bottom). The results showed that the functional diversity indices (Shannon, Simpson, and McIntosh) and the carbon source utilization degree of the soil microbial communities at the pit bottom were slightly higher than those at the pit level and were significantly higher than those at the mid-slope level, showing a trend of downhill>mid-slope>uphill. The main sources of carbon used by soil microbial community on slope are sugars and amino acids. The two principal components account for 31.9% and 28.7% of all variance and can distinguish the carbon source utilization of soil microbial communities in different slope positions. The α diversity index of herbaceous plants inside and outside the pit was significantly different. The diversity index of woody plants on the slope was significantly different ($P < 0.05$), and the diversity index of the woody plants was highest downhill. The β diversity index showed that the habitats of the different slopes are different and that the habitats of the downhill area are the most diverse. The study found that the unique negative topography and soil environment of the degraded karst tiankeng talus slopes led to higher plant diversity and higher functional diversity of soil microbial communities, and that the spatial distribution of the two is consistent. Thus, special attention should be paid to the value of underground forest resources on the talus slopes.

Key Words: karst Tiankeng; talus slope; soil microorganism; functional diversity; distribution characteristics

喀斯特天坑(Tiankeng)是一种区别于常态喀斯特漏斗的独特宏大地表负地形^[1],其具有巨大容积、陡峭而圈闭的岩壁、深陷的井状或桶状轮廓等形态特征,是宏大且独特的负地形世界奇观。喀斯特天坑受坑壁圈闭化效应和地形约束的影响,天坑内部的水热条件、气候特征均与地表有异,由此造就了与外界环境相对独立的内部独特生境^[2]。中国是名副其实的“世界喀斯特天坑王国”,境内共分布 50 余个天坑。全球已发现的 3 个特大型天坑均分布在中国,并发现了许多颇具代表性的喀斯特天坑群,例如四川兴文天坑群、重庆武隆天坑群、云南沾益天坑群、贵州罗甸天坑群等^[3]。喀斯特天坑群呈现出独特的生境特征和生物多样性分布格局,不仅具有物种多样性保护库功能,并且在全球气候变化的大环境下,能成为区域小尺度上的生态避难所,其蕴含的旅游美学价值和科研价值巨大^[4]。

随着对喀斯特天坑研究的深入,不断有研究表明天坑具有植物种类丰富、珍稀植物多样等特点^[5],印证了规模最为宏大、圈闭化程度最高的喀斯特天坑是一个重要的生物多样性宝库及物种多样性保护库。近年来针对天坑的研究主要集中在植物多样性及群落结构特征^[6],如云南沾益大毛寺原生天坑坑底与坑边缘的植物群落组成差异较大,坑底植物多样性和丰富度更高^[7]。广西流星成熟天坑内植物群落物种多样性较高,资源生态位多样^[8]。四川兴文天坑群中,退化程度较小的天坑植物群落物种最丰富^[9]。但相关研究却忽略了退化天坑土壤微生物群落的功能多样性。退化天坑成为植物多样性宝库,其中的土壤微生物群落功不可没,是天坑植物生态的中介与桥梁。同时,生物多样性涉及植物、动物和土壤微生物及其生存环境,对喀斯特天坑生物多样性的研究,土壤微生物群落多样性也是必不可少的部分。土壤微生物是生态系统的最活跃的组成部分,它参与物质循环、有机质分解等生化过程,被誉为生物地球化学循环的引擎^[10]。土壤微生物群落多样性即土壤生态系统中微生物群落生态特征及微生物与环境间相互作用的多样化程度^[11]。土壤微生物群落多样性包括组成多样性、功能多样性以及遗传多样性,其中土壤微生物群落功能多样性是土壤微生物群落状态与功能的指标,反映不同环境下土壤微生物群落的生态特征^[12],与土壤功能^[13]、植被发育^[14]、生态系统的可持续之间关系密切^[15]。喀斯特天坑内部是一个相对封闭的环境,较坑外具有湿度大、温度低和负氧离子浓度高的特点,形成了独特的小气候,这为各种生态类型动物、植物以及微生物的繁衍生长提供了异质性的环境^[16],明确天坑生境中土壤微生物群落的分布特征以及土壤生态功能具有重要意义。

本研究对象——巴家陷塘天坑属于退化天坑。在所有天坑类型中,退化天坑分布最多。退化天坑是指天坑其四周的崖壁退化崩塌形成倒石坡,在此之上树木掩映块石堆积体后形成天坑植物群落的一种天坑类型^[17],具有可进入性强,受人为干扰较大,与外界环境联系更为紧密等特点,因此退化天坑的生物多样性更加丰富,表现出多元化的生态类型^{[18][19]}。前期的研究发现,退化天坑中倒石坡由于拥有良好的土壤资源和较

少的外界干扰,形成了植物物种丰富和多样性较高的空间格局^[20]。不同于以往的研究均针对于正地形坡面^{[15,20][21]},退化天坑倒石坡是一种负地形坡面,作为连接天坑内外的过渡带,具有异于地表的气候条件(温度、降水等)、土壤特性(pH、含水量、碳氮比等)等环境梯度,以及植被覆盖的差异,这些因素都是土壤微生物多样性和空间分布的关键驱动因子^[22]。在退化天坑中选择探究倒石坡土壤微生物多样性更具代表性。

因此,本研究利用 Biolog 微平板技术探究喀斯特退化天坑倒石坡不同坡位的土壤微生物群落功能多样性,明确倒石坡上土壤微生物群落分布特征,了解喀斯特天坑的土壤功能、植被覆盖以及生态过程,揭示倒石坡在退化天坑生物多样性保护中的价值,并为退化天坑的生态恢复和生物多样性保育提供科学依据。

1 研究区域及研究方法

1.1 研究区概况

沾益天坑群位于云南曲靖市沾益海峰自然保护区内(图 1),地处滇东高原北部,具有原生和退化天坑完美共存,集中成群分布等特点。地理位置介于 103°29'—103°39'E,25°35'—25°57'N 之间。海峰自然保护区是云南省纬度和海拔最低,结构完整、功能齐全的区域。天坑群所在区域气候特征为典型的亚热带高原季风气候类型,其气候特点为干湿季分明、年温差小、日温差大。平均气温 13.8—14℃,太阳辐射能年总量为 123.8 kcal/cm²,年降雨量 1073.5—1089.7 mm 左右。年平均风速为 2.7 m/s,风向以西南风为主。天坑群区域的土壤处于云南土壤的红土壤水平带,加之该区域内独特的气候类型共同为生物多样性形成奠定了坚实的基础。

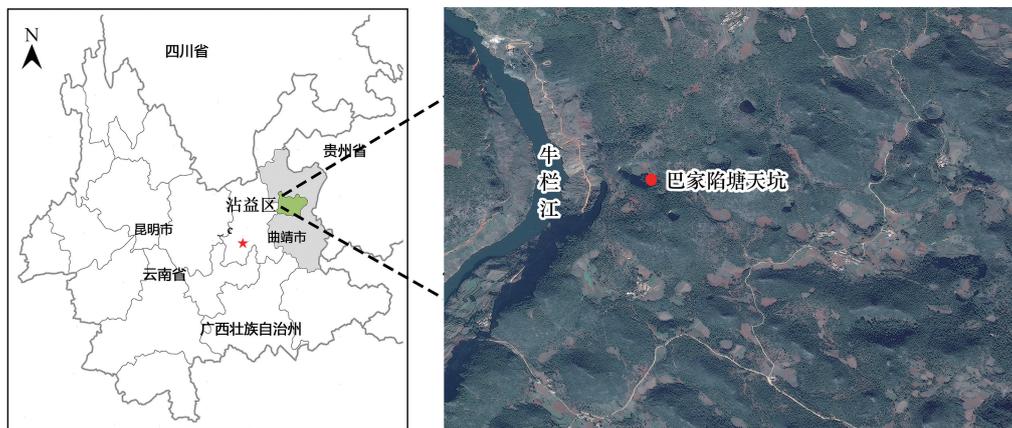


图 1 云南沾益天坑群地理区位

Fig.1 Location of Zhanyi Karst tiangkeng groups in Yunnan Province

表 1 喀斯特天坑退化等级划分

Table 1 Degradation classification of karst tiangkeng

项目 Project	退化等级 Degeneration grade			
	轻度退化 Light-degraded	中度退化 Moderate-degraded	重度退化 Heavy-degraded	极重度退化 Extremely heavy-degraded
深宽比 The ratio of depth to width	(0.45, 1]	(0.35, 0.45]	(0.1, 0.35]	(0, 0.1]
坑壁面积破损度 Pit wall area damage degree	0—20%	21%—50%	51%—80%	>81%
倒石坡面数 Talus slope surface number	<1	1—2	3	>4 (坡面环状分布)
圈闭程度 Trap degree	好	较好	较差	差
坑口形态 Pit morphology	近似椭圆形	不规则椭圆形	不规则多边形	近似大型退化漏斗

1.2 样地调查

本文选取沾益天坑群中的巴家陷塘为研究对象,巴家陷塘坑底海拔为 2013.5 m,长径达 240.0 m,短径为

197.7 m,从坑口到坑底的距离达 70 m,深宽比为 0.353,坑壁破损度小于 20%。根据退化天坑的深宽比、坑壁破损度及坑口等外观形态方面设置评价参数(表 1)^[23],将其划分为中度退化天坑。巴家陷塘退化天坑主要在坑南侧形成倒石坡,坑底没有乔灌木遮挡,光照充足,主要生长着黄龙尾 *Agrimonia pilosa var. nepalensis*、苎草 *Arthraxon hispidus*、龙芽草 *Agrimonia pilosa* 等阳生型植物。到坑缘由于乔灌木的荫蔽环境影响,植物逐渐过渡到一把伞南星 *Arisaema erubescens*、川西鳞毛蕨 *Dryopteris rosthornii* 等阴生植物。坑坡则主要为森林群落,优势乔灌层主要有云南松 *Pinus yunnanensis*、栓皮栎 *Quercus variabilis*、油杉 *Keteleeria fortunei*、清香木 *Pistacia weinmanniifolia* 等,坑坡的草本层主要是一把伞南星 *Arisaema erubescens*、紫茎泽兰 *Eupatorium adenophorum*、川西鳞毛蕨 *Dryopteris rosthornii*、半夏 *Pinellia ternata* 等。坑口草本层主要是一把伞南星 *Arisaema erubescens*、板凳果 *Pachysandra axillaris* 等。各坡位样地信息如表 2 所示,坑坡样方设置如图 2 所示。在巴家陷塘南侧布设样线,起于坑口,止于坑底,分为坑口、坑坡(上坡位、中坡位和下坡位)和坑底 5 个坡位。每个坡位布设 5 个 1 m×1 m 草本样方,记录物种名,测定各物种的株数、盖度等指标。坑坡主要为森林群落,故每个坡位再设置 1 个 20 m×20 m 木本样方,记录物种名,测定各物种的株数、盖度等指标。利用手持 GPS 记录样地的经纬度、海拔、坡位等地理位置信息。样地土壤环境因子主要采用土壤温湿度测定仪、土壤原位 pH 测定仪及土壤电导率测定仪采集。每个草本样方内采一个土样,将 5 个样方内土样合并为一个样品,过 2 mm 筛,放置在冰盒中冷藏带回实验室,做土壤微生物群落功能多样性测试。

表 2 巴家陷塘坡位样地基本信息

Table 2 Basic plots conditions of Bajiaxiatang in the slope position gradient

采样点 Sampling point	海拔 Altitude/m	地理坐标 Geographic coordinate		土壤理化性质 Soil physical and chemical properties			
		经度 Longitude/E	纬度 Latitude/N	土壤温度 Soil temperature/°C	土壤水分 Soil moisture/%	土壤盐度 Soil salinity/ (ms/cm)	pH 值 pH value
坑底 Pit bottom	1946.5	103°33'40.7"	25°47'6.4"	18.56±1.26a	39.7±0.65a	0.06±0.06b	6.35±0.21c
下坡位 Downhill	1951.1	103°33'37.1"	25°47'6.5"	19.12±0.75c	37.1±0.39ab	0.19±0.03a	6.95±0.39b
中坡位 Mid-slope	1995.6	103°33'37.0"	25°47'6.4"	19.38±0.68c	35.6±0.21b	0.10±0.07b	6.92±0.52bc
上坡位 Uphill	2006.2	103°33'37.5"	25°47'5.5"	19.71±0.70c	34.9±0.56ab	0.19±0.02a	7.01±0.16b
坑口 Pit	2034.5	103°33'36.0"	25°47'11.9"	20.68±0.88b	28.5±0.76c	0.09±0.06b	7.92±0.26a

1.3 植物 α、β 多样性指数

1.3.1 α 多样性指数

α 多样性指数选择 Simpson 优势度指数 (C)、Shannon-Wiener 多样性指数 (H)、Margalef 丰富度指数 (D)、Pielou 均匀度指数 (J) 进行分析,计算公式如下:

Shannon-Wiener 指数:

$$H = - \sum_{i=1}^s (P_i \ln P_i) \quad (1)$$

$$\text{Simpson 指数: } C = 1 - \sum P_i^2 \quad (2)$$

$$\text{Margalef 指数: } D = (S - 1) / \ln N \quad (3)$$

$$\text{Pielou 指数: } J = - \sum_{i=1}^s (P_i \ln P_i) / \ln S \quad (4)$$

式中, S 为调查的物种总数; N_i 为样方中物种 i 的个体数, N 表示样方中所有物种的个体总数, P_i 表示样方中物种 i 的个体数占所有物种个体总数的比例,即 $P_i = N_i / N$ 。

1.3.2 β 多样性指数

β 多样性也称为生境间的多样性,是沿环境梯度不同生境群落之间物种组成的相异性^[24]。β 多样性的



图 2 巴家陷塘退化天坑坡位梯度上样方设置

Fig. 2 Plant community survey at slope gradient in Bajiaxiatang

测度方法分采用二元数据测度法,选择 Whittaker 指数、Cody 指数、Routledge 指数、Whilson-Shmida 指数进行分析。

$$\text{Whittaker 指数: } \beta_w = \frac{S}{m_a} - 1 \quad (5)$$

$$\text{Cody 指数: } \beta_c = \frac{g(H) + l(H)}{2} \quad (6)$$

$$\text{Routledge 指数: } \beta_r = \frac{S^2}{2r + S} - 1 \quad (7)$$

$$\text{Whilson-Shmida 指数: } \beta_T = \frac{g(H) + l(H)}{m_a} \quad (8)$$

式中, S 为调查的物种总数, m_a 为各样方中物种平均数; $g(H)$ 是沿生境梯度 H 增加的物种数目, $l(H)$ 是沿生境梯度 H 失去的物种数目,即在上一个梯度中存在而在下一个梯度中没有的物种数目; r 为分布重叠的物种数。

1.4 土壤微生物群落功能多样性测定

土壤微生物群落功能多样性采用 Biolog 微平板技术进行测定。Biolog 微平板每孔的单一碳源的利用率可了解微生物的动态,每块平板共 96 微孔,3 组重复,每组包含 31 种不同碳源和 1 个空白。在一定温度下恒温培养,土壤微生物代谢碳源产生的电子,可使微孔内的染料变成紫色。每孔颜色变化程度可以反映土壤微生物对不同碳源的代谢能力高低。

称取 10.0 g 鲜土放入三角瓶中,加入 90 mL 灭菌的生理盐水(0.85 % NaCl, W/V),用无菌棉花塞封口。震荡 30 min 后,静置 15 min,用移液枪吸取 10 mL 上清液,加入 90 mL 灭菌生理盐水。按逐步稀释法,将土壤悬液稀释为 10^{-3} g/mL。在超净工作台中用移液器将制备好的土壤悬液接种到 Biolog 微平板的各孔中,每孔 150 μ L,放入 25 $^{\circ}$ C 的培养箱中培养 7 d。每隔 24 h 用 Biolog 微生物自动鉴定系统(MicroStationTM System, 美国 Biolog 公司)在 590 nm 下测定各孔的吸光值,完成数据的采集和储存。

1.5 数据分析

1.5.1 平均颜色变化率(Average well Color Development, AWCD)

$$AWCD = \frac{\sum (A_i - A_{A1})}{31}$$

式中, A_i 为反应孔在 590 nm 处的吸光值, A_{A1} 为控制孔在 590 nm 处的吸光值。若 $A_i - A_{A1}$ 值为负值结果取零。

1.5.2 群落功能多样性

微生物群落功能多样性常通过各种多样性指数来反应,本研究采用的多样性指数如表 3 所示。

表 3 土壤微生物群落多样性指数

Table 3 Soil microbial community diversity index

多样性指数 Diversity index	公式 Formula	用途 Use	计算方法 Calculation method
丰富度指数 Shannon-Wiener index(H)	$H = - \sum P_i \ln(P_i)$	研究异质性问题,评估群落的丰富度,对稀有种数目变化反映敏感	P_i 为第 i 孔的相对吸光值与整个平板相对吸光值总和的比率
优势度指数 Simpson index(D)	$D = 1 - \sum (P_i)^2$	常用于评估群落常见种优势度,主要用于度量调查群落的集中性,是多样性的反面即集中性的度量	P_i 为第 i 孔的相对吸光值与整个平板相对吸光值总和的比率
均匀度指数 McIntosh index(U)	$U = \sqrt{(\sum n_i)^2}$	评估群落均匀度	n_i 是第 i 孔的相对吸光值,即 $A_i - A_{A1}$

所有实验数据采用单因素方差分析,结果以平均值 \pm 标准偏差(SD)表示。土壤微生物群落培养到 144 h 的 AWCD 值趋于稳定,故采用 144 h 的 AWCD 值计算群落多样性指数和主成分分析。利用 SPSS 22.0 和 Origin 9.0 进行主成分分析,使用 Excel 2007 和 Origin 9.0 组图。

2 结果与分析

2.1 植物群落的物种多样性

多样性指数是反映群落物种多样化或异质性程度的指标。如图 3 所示,草本层植物多样性在坑坡上表现为中坡位的 Shannon-Wiener 多样性指数最大,但不同坡位间差异不显著。坑底的 Simpson 优势度指数和 Margalef 丰富度指数均显著高于坑口, Margalef 丰富度指数在上、中、下坡位间差异不显著。各坡位上的 Pielou 均匀度指数差异不明显。分析坑坡上的木本层植物多样性(图 4),上、中、下坡位的木本植物多样性差异显著,且下坡位最大。综合分析以上指数发现,坑内外草本植物分异特征较明显,而坑坡作为坑底与坑口的过渡地带,草本层植物与坑底和坑口差异不大,但坑坡的木本层植物差异显著。

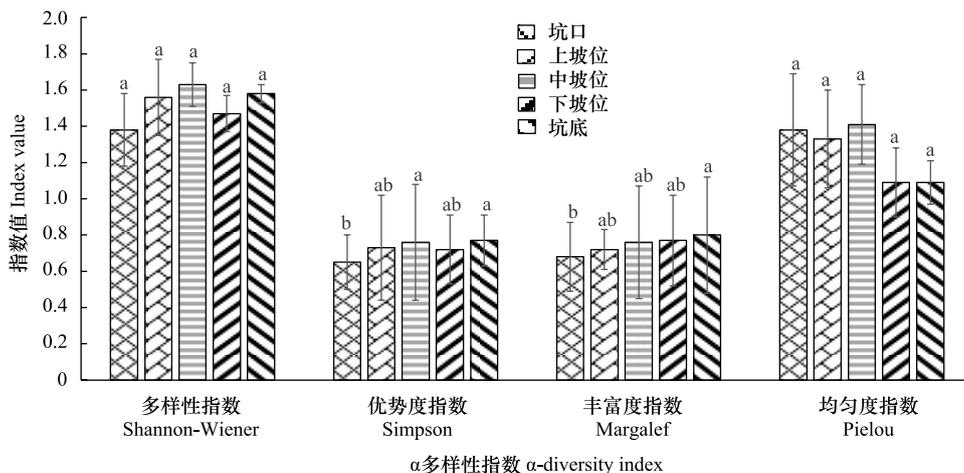


图 3 坡位梯度上草本层植物 α 多样性指数

Fig.3 Herb-layer plant α diversity index on slope gradient

β 多样性用于表示沿环境梯度不同生境间物种组成的差异性,是植物种类对环境异质性的响应^[25]。 β 多样性越大,表明不同生境间的差异越大。从图 5 可以看出,从坑口到坑底,各 β 多样性指数大致呈逐渐增大的趋势,这表明沿着坑坡的环境梯度,共有种的数量逐渐减少,植物种类差异越来越大。且 Whittaker 指数、Cody 指数、Routledge 指数及 Whilson-Shmida 指数均表现为下坡位与坑底的差异最大。综合可知,退化天坑倒石坡的下坡位生境类型最多样,能量物质交换频繁。而其它坡位的 β 多样性指数相比较低,植物群落结构更稳定。

2.2 土壤微生物群落代谢活性

土壤微生物群落的代谢活性及对单一碳源利用能力可通过平均颜色变化率(AWCD)来表征,其值也在一定程度上反应了土壤微生物群落的数量及结构特征。由图 6 可以看出,在 0—24 h 内,微生物群落利用对碳源的利用率低,故 AWCD 值较低。随着培养时间的增

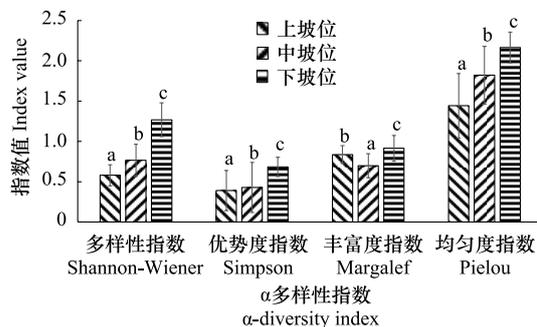


图 4 坡位梯度上木本层植物 α 多样性指数

Fig.4 Woody-layer plant α diversity index on slope gradient

不同字母表示不同坡位间差异显著($P < 0.05$);相同字母表示差异不显著($P > 0.05$)

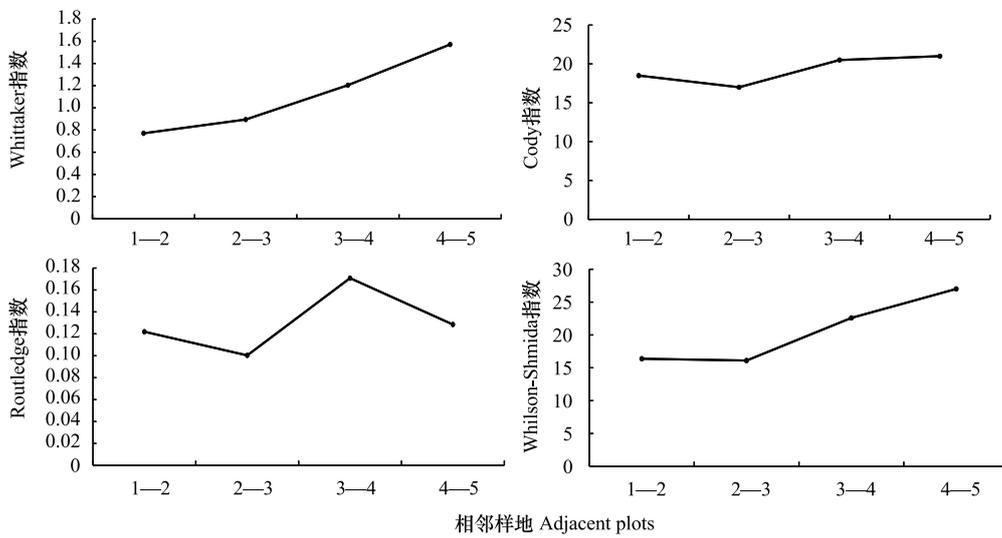


图 5 坑坡梯度上植物 β 多样性指数

Fig.5 Plant β diversity index on slope gradient

1 为坑口样地,2 为上坡位样地,3 为中坡位样地,4 为下坡位样地,5 为坑底样地

加,AWCD 值不断上升,且在 24 h 后不同坡位的 AWCD 值出现不同的增长趋势,24—72 h 时间段里不同坡位土壤微生物的 AWCD 值呈现出交替上升,72 h 后各坡位土壤微生物的 AWCD 值出现分化,大体上呈现出下坡位>坑底>中坡位>上坡位>坑口。结果表明坑底和下坡位的土壤微生物群落代谢活性相对较高。

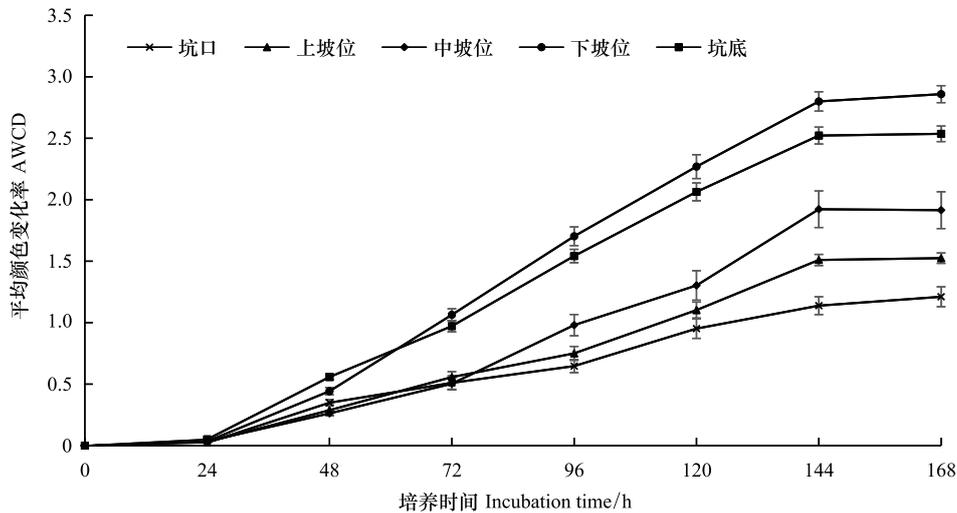


图 6 不同坡位土壤微生物群落平均颜色变化率 (AWCD) 随时间变化

Fig.6 AWCD of different slope soil microbial community with time gone

2.3 土壤微生物群落对碳源利用强度

Biolog 微平板的碳源包括糖类、羧酸类、氨基酸类、酚酸类、聚合物类和胺类。通过不同坡位土壤微生物群落对 6 类碳源的利用程度分析(图 7)可知,不同坡位土壤微生物利用碳源的程度存在差异,大体上呈现出从坑底到坑口利用程度逐渐降低的趋势,利用率较大的碳源为糖类和氨基酸类,酚酸类和聚合物类利用率较低。说明糖类和氨基酸类碳源是倒石坡上土壤微生物群落利用的主要碳源。

2.4 土壤微生物群落代谢多样性类型

不同坡位的土壤微生物群落结构和功能多样性能通过对不同碳源的利用差异来体现。采用 144 h 的 AWCD 值,对不同坡位土壤微生物群落利用单一碳源特征进行主成分分析。获得两个与土壤微生物群落多

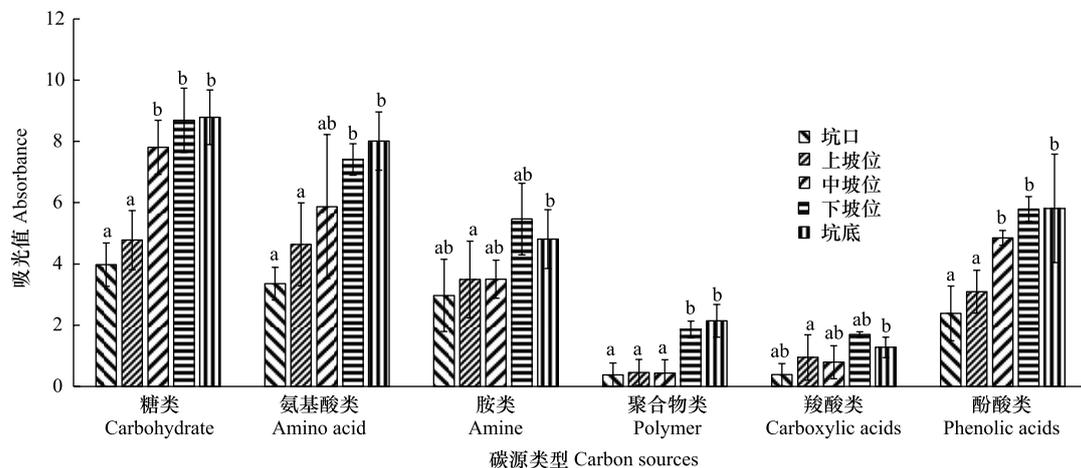


图7 不同坡位土壤微生物群落对6种碳源的利用程度

Fig.7 The utilization degree of soil microbial community on 6 carbon sources in different slope soil

不同字母表示不同坡位间差异显著 ($P < 0.05$); 相同字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)

样性相关的主成分, 分别为 PC1 (31.9%) 和 PC2 (28.7%), 两者累计贡献率为 60.6%, 由于其他成分贡献率更小, 故只采用 PC1 和 PC2 来表征土壤微生物群落碳源代谢特征。由图 8 可知, 不同坡位土壤微生物群落在 PC 轴上出现分布差异。不同坡位土壤微生物群落的碳源利用有明显的分异效果, 这表明坡位不同对土壤微生物群落的碳源利用有较大的影响。整体上下坡位在 PC1 和 PC2 正半轴的载荷值最高, 这说明坑底的土壤微生物群落基础代谢活性高于其他坡位。此外, 将主成分 PC1 和 PC2 的得分系数与 31 种单一碳源做相关性分析, 其中与 PC1 相关的碳源有 14 种, 主要是糖类 (D-半乳糖酸 γ -内酯、D, L- α -磷酸甘油) 和羧酸类 (丙酮酸甲酯、D-半乳糖醛酸、 α -丁酮酸), 与 PC2 相关的碳源有 12 种, 其中糖类 (D-木糖/戊醛糖、N-乙酰-D 葡萄糖氨), 氨基酸类 (L-苯丙氨酸、L-丝氨酸) 和聚合物类 (α -环式糊精、肝糖) 对 PC2 贡献较大。由此可以看出, 在倒石坡上糖类和羧酸类碳源更能引起土壤微生物群落功能变化。同时也说明倒石坡的土壤环境为土壤微生物提供了充足的营养基质, 且碳水化合物类物质丰富。

2.5 土壤微生物群落功能多样性

目前群落多样性指数常用 Simpson 指数 (D)、Shannon-Wiener 指数 (H) 和 McIntosh 指数 (U) 来表征, 是研究常见物种优势度, 群落丰富度及均匀度的综合指标^[26]。结果如表 4 所示, 下坡位的 Shannon-Wiener 指数最高, 不同坡位间差异显著 ($P < 0.05$), 表明下坡位的土壤微生物群落种类多, 分布均匀。其次 Simpson 指数在坑底和下坡位略高于其他坡位, 除坑口和上坡位差异不显著外, 其余坡位均差异显著 ($P < 0.05$), 说明在坑底和下坡位的土壤微生物群落优势种群长势良好, 数量优势明显。最后的 McIntosh 指数在各坡位差异显著 ($P < 0.05$), 下坡位最大, 其次坑底, 表明下坡位的土壤微生物种类丰富, 且均匀度高。综上可知在退化天坑的倒石坡上, 不同坡位的土壤微生物群落功能多样性存在差异, 相比而言坑底和下坡位的多样性更高, 具有更高的土壤微生物种群生态位。

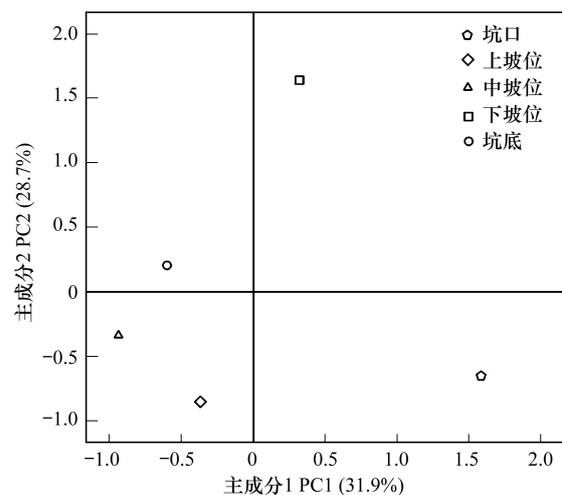


图8 土壤微生物群落主成分分析

Fig.8 Principal component analysis (PCA) of soil microbial community

表 4 土壤微生物群落多样性指数

Table 4 Diversity indices for soil microbial community

坡位 Slope Position	丰富度指数 Shannon-Wiener Index(<i>H</i>)	优势度指数 Simpson Index(<i>D</i>)	均匀度指数 McIntosh Index(<i>U</i>)
坑口 Pit	2.56±0.12c	0.90±0.004d	3.64±0.78d
上坡位 Uphill	2.64±0.03d	0.91±0.01d	4.14±0.47cd
中坡位 Mid-slope	2.80±0.06bc	0.93±0.009bc	5.14±0.87c
下坡位 Downhill	3.01±0.05a	0.94±0.004ab	7.16±0.63a
坑底 Pit bottom	2.92±0.06ab	0.94±0.003a	6.90±0.34ab

数据以平均值±标准差表示,不同字母表示不同坡位间差异显著($P<0.05$);相同字母表示差异不显著($P>0.05$)

3 讨论

3.1 负地形倒石坡环境梯度对土壤微生物多样性的影响

生物多样性沿环境梯度的变化是近年来生物多样性研究的重要问题,环境梯度是影响物种多样性分布格局的决定性因素之一,亦是生物多样性分布格局研究的重要方面^[27]。本研究通过 β 多样性指数比较发现,从坑口到坑底各 β 多样性指数逐渐增大,各坡位间物种组成差异大,这说明天坑作为一种独特的地理生境,坑内外生境具有明显的分异特点,坑坡上不同坡位的生境也存在差异,其中下坡位和坑底的差异最大,下坡位生境异质性明显。不同生境具有差异性的土壤环境、温度和水分等非生物环境,这些都会影响土壤微生物群落多样性^[28]。首先坡位是重要的地形因子,不同坡位的生境直接影响着土壤微生物群落。研究表明坡面表层的土壤微生物量和养分会由于地表径流和淋溶作用而表现出明显的“洼积效应”,即随坡位的上升,土壤微生物量和土壤养分会逐渐降低^[29]。喀斯特退化天坑的倒石坡坡面,坡上部土壤细粒由于侵蚀、重力等作用搬运到坡下部,因此土壤团聚效应使坡下部的土壤较厚,有机质含量高。而土壤颗粒越细、有机质含量越高,土壤微生物群落结构就会越复杂,多样性也越高^[30]。本研究发现土壤微生物群落功能多样性也表现为下坡位>中坡位>上坡位,有明显的“洼积效应”。这与黄土高原丘陵沟壑区坡面^[15]和紫色土区坡耕地坡面^[31]的土壤微生物群落多样性和数量分布规律一致。

其次坡位会引起土壤水分的变化,这也是导致多样性波动的重要因素。Gordon 等^[32]和 Xiang 等^[33]的研究一致认为,较高的土壤水分可提高土壤微生物活性。样地调查土壤含水量发现,坑内土壤含水量显著高于坑口($P<0.05$)。坑口为典型的喀斯特地质环境,石漠化严重,保水性差,造成土壤有机质流失,影响土壤微生物生存环境,因而坑口的土壤微生物群落多样性较低。而喀斯特漏斗地形底部可聚集大量的水分,坑坡(冲沟)也具有较强的汇水功能,良好的土壤条件使土壤微生物群落多样性更高。

最后土壤的管理方式也会通过改变土壤理化性质而影响土壤微生物群落多样性。走访调查了解到巴家陷塘在 70 年代以前坑底曾进行农耕活动,建国之后处于停耕状态,有一定的自然恢复,但同时存在适度放牧等人为干扰,羊等牲畜主要集中在坑底和下坡位处觅食。根据“中度干扰理论”,适度放牧干扰下,植物根系发育良好且分泌物较为丰富,改善土壤条件,利于微生物的生存和繁殖,从而使得下坡位和坑底具有较高的土壤微生物群落多样性^[34]。

3.2 负地形倒石坡植被对土壤微生物多样性的影响

植被群落状态是土壤微生物群落功能多样性的主导因素之一,坡面不同坡位的水热组合会影响植被覆盖差异,同时影响土壤性质,使得地表群落和地下系统相互关联^[35]。生态系统中的植物群落可通过影响土壤的碳氮含量、含水量、通气性及 pH 值等来影响土壤微生物群落多样性^[36],地表植物多样性高有利于土壤微生物群落代谢及多样性形成。Waid 等^[37]认为土壤微生物群落多样性变化与植被类型、数量及化学组成有密切关系。周桔等^[38]研究发现地上植被多样性与土壤微生物群落多样性呈显著正相关。本研究通过对比草本层植物多样性指数发现,坑底的 Simpson 指数和 Margalef 指数均显著高于坑口($P<0.05$)。坑口植物群落受环

境的影响,植被覆盖率及多样性较低。而土壤微生物群落多样性也显示坑底土壤微生物群落对碳源利用程度较高,多样性指数均表现为坑底显著高于坑口($P<0.05$),表明坑底土壤微生物群落种类多且均匀。

坑坡的下坡位植物群落逐渐由灌草丛向森林群落过渡,生境较为湿润,主要生长着阴生草本植物,如一把伞南星、板凳果等。研究表明一种植被类型被另一种植被类型取代的生态张力区,往往具有物质交换和能量流动比临近群落高、生物多样性高以及土壤养分条件改变等特点^[39]。Rusina^[40]等认为不同草原类型的交错区域由于生境异质性,能保持较高的植物多样性。结合草本植物多样性指数分析,坑坡草本植物多样性指数差异不显著,但木本植物多样性在上、中、下坡位间差异显著($P<0.05$)。任正龔等^[41]也认为坡面地形因生境差异而对木本层植物分布影响最显著。坑坡作为过渡带,坑内外植物多样性差异显著,具有一定的“边缘效应”。比较坡面上土壤微生物群落功能多样性指数和群落利用碳源的整体能力,结果均表现为下坡位>中坡位>上坡位,这可能是由于在草本层植物多样性差异不显著的情况下,下坡位较高的木本层植物多样性可以通过更多的凋落物和根系分泌物来供给土壤微生物,提高土壤微生物群落多样性。土壤微生物群落多样性高的土壤,生态功能更多样化,土壤生态系统和生产力能保持稳定,从而维持植被群落结构、发育和演替。

4 结论

通过对巴家陷塘中度退化天坑倒石坡的土壤微生物群落研究发现,坑底和坑口的土壤微生物群落功能多样性存在明显差异,坑底土壤微生物群落的碳源代谢能力和功能多样性指数(Shannon 指数、Simpson 指数、McIntosh 指数)均高于坑口。坑坡作为连接坑内外的过渡带,其土壤微生物群落多样性与坑底、坑口具有相异的特点,下坡位土壤微生物群落功能多样性略高于坑底,显著高于中坡位,在坡面上呈现出下坡位>中坡位>上坡位的趋势。下坡位的系统结构较复杂,生物多样性较丰富,异质性较高,并且受到天坑环境资源调控,其土壤养分及持水性能优于其他样地,能为土壤微生物群落提供更多的生态位。因此未来在退化天坑封山育林的保护中,更应重视倒石坡的生物多样性及物种保护的重要性。

本研究采用的 Biolog 微平板技术工作效率高,操作简单,被广泛应用于土壤微生物群落功能多样性研究。但该技术具有一定的局限性,只能反映能利用 Biolog 微平板中碳源的微生物。今后研究需采用高通量测序技术、磷脂脂肪酸(PLFA)、土壤蛋白质组学等方法,对比天坑内外土壤微生物群落差异,深入探究土壤微生物群落结构及功能多样性,特别与土壤营养循环相关的功能微生物群落多样性,这将有利于喀斯特天坑作为生物多样性宝库的进一步探索。

参考文献 (References):

- [1] 朱学稳, 陈伟海. 中国的喀斯特天坑. 中国岩溶, 2006, 25(S1): 7-24.
- [2] Bútori Z, Farkas T, Erdős L, Tölgyesi C, Körmöczy L, Vojtkó A. A comparison of the vegetation of forested and non-forested solution dolines in Hungary: a preliminary study. *Biologia*, 2014, 69(10): 1339-1348.
- [3] 税伟, 陈毅萍, 王雅文, 苏正安, 张素. 中国喀斯特天坑研究起源、进展与展望. *地理学报*, 2015, 70(3): 431-446.
- [4] 陈毅萍, 江聪, 简小枚, 税伟, 胡颖, 马婷, 项子源. 云南沾益中度退化天坑草地植物群落水平空间分布特征. *生态学报*, 2018, 38(22): 8008-8021.
- [5] 俞筱押, 李玉辉, 马遵平. 云南石林喀斯特小生境木本植物多样性特征. *山地学报*, 2007, 25(4): 438-447.
- [6] 税伟, 陈毅萍, 简小枚, 江聪, 王前锋, 郭平平. 喀斯特原生天坑植物群落空间格局特征——以云南沾益天坑为例. *应用生态学报*, 2018, 29(6): 1725-1735.
- [7] 税伟, 陈毅萍, 简小枚, 江聪, 王前锋. 喀斯特原生天坑垂直梯度上植物多样性特征——以云南沾益天坑为例. *山地学报*, 2018, 36(1): 53-62.
- [8] 苏宇乔, 薛跃规, 范蓓蓓, 莫佛艳, 冯慧喆. 广西流星天坑植物群落结构与多样性. *西北植物学报*, 2016, 36(11): 2300-2306.
- [9] 刘守江, 张斌, 杨清伟, 胡翠华, 舒成强. 四川兴文石海小岩湾园区植物群落物种组成与多样性初探. *亚热带植物科学*, 2009, 38(1): 37-40.
- [10] 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.
- [11] Bossio D A, Fleck J A, Scow K M, Fujii R. Alteration of soil microbial communities and water quality in restored wetlands. *Soil Biology and*

- Biochemistry, 2006, 38(6): 1223-1233.
- [12] 陈悦, 吕光辉, 李岩. 独山子区优势草本植物根际与非根际土壤微生物功能多样性. 生态学报, 2018, 38(9): 3110-3117.
- [13] 杨秉珣, 刘泉, 董廷旭. 嘉陵江流域不同土地利用类型土壤微生物功能多样性特征. 水土保持研究, 2017, 24(5): 14-20, 26-26.
- [14] 张于光, 王慧敏, 李迪强, 肖启明, 刘学端. 三江源地区不同植被土壤固氮微生物的群落结构研究. 微生物学报, 2005, 45(3): 420-425.
- [15] 李超然, 温仲明, 李鸣雷, 朱朵菊, 曾鸿文, 史海静. 黄土丘陵沟壑区地形变化对土壤微生物群落功能多样性的影响. 生态学报, 2017, 37(16): 5436-5443.
- [16] 陈伟海, 朱德浩, 朱学稳. 重庆市奉节天坑地缝岩溶景观特征及评价. 地理与地理信息科学, 2004, 20(4): 80-83, 96-96.
- [17] Waltham T. 天坑释义. 朱学稳, 译. 中国岩溶, 2006, 25(S1): 35-42.
- [18] 简小枚, 税伟, 王亚楠, 王前锋, 陈毅萍, 江聪, 项子源. 重度退化的喀斯特天坑草地物种多样性及群落稳定性——以云南沾益退化天坑为例. 生态学报, 2018, 38(13): 4704-4714.
- [19] 简小枚, 税伟, 陈毅萍, 江聪, 胡颖, 王前锋, 黄梦圆. 云南中度退化的喀斯特天坑草地植物群落优势种种间关系. 应用生态学报, 2018, 29(2): 492-500.
- [20] 胡婵娟, 傅伯杰, 刘国华, 靳甜甜, 郭雷. 黄土丘陵沟壑区坡面尺度上微生物的空间分布规律. 水土保持学报, 2009, 23(3): 148-152.
- [21] 成毅, 安韶山, 马云飞. 宁南山区不同坡位土壤微生物生物量和酶活性的分布特征. 水土保持研究, 2010, 17(5): 148-153.
- [22] 褚海燕, 申聪聪. 绘制土壤微生物蓝图: 土壤微生物地理学. 科学观察, 2017, 12(6): 54-56.
- [23] 陈思贤, 税伟, 何锦峰, 张启春. 天坑景观评价模型与指标体系构建. 四川地质学报, 2009, 29(S1): 28-34.
- [24] Legendre P. Studying beta diversity: ecological variation partitioning by multiple regression and canonical analysis. *Journal of Plant Ecology*, 2008, 1(1): 3-8.
- [25] 张晓龙, 周继华, 蔡文涛, 管天玉, 高楠楠, 杜会, 姜联合, 来利明, 杨大文, 丛振涛, 郑元润. 水分梯度下黑河流域荒漠植物群落多样性特征. 生态学报, 2017, 37(14): 4627-4635.
- [26] 陈宏灏, 张蓉, 张怡, 王芳, 高立原. 压砂地土壤微生物群落功能多样性分析. 土壤通报, 2011, 42(1): 51-55.
- [27] Gaston K J. Global patterns in biodiversity. *Nature*, 2000, 405(6783): 220-227.
- [28] He X Y, Su Y R, Liang Y M, Chen X B, Zhu H H, Wang K L. Land reclamation and short - term cultivation change soil microbial communities and bacterial metabolic profiles. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2012, 92(5): 1103-1111.
- [29] 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.
- [30] Sessitsch A, Weillharter A, Gerzabek M H, Kirchmann H, Kandeler E. Microbial population structures in soil particle size fractions of a long-term fertilizer field experiment. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(9): 4215-4224.
- [31] 郭甜, 何丙辉, 蒋先军, 马云, 吴咏, 向明辉, 谌芸, 唐春霞. 紫色土区植物篱对坡面土壤微生物特性的影响. 水土保持学报, 2011, 25(5): 94-98, 185-185.
- [32] Gordon H, Haygarth P M, Bardgett R D. Drying and rewetting effects on soil microbial community composition and nutrient leaching. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(2): 302-311.
- [33] Xiang S R, Doyle A, Holden P A, Schimel J P. Drying and rewetting effects on C and N mineralization and microbial activity in surface and subsurface California grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2281-2289.
- [34] Lin Y, Hong M, Han G D, Zhao M L, Bai Y F, Chang S X. Grazing intensity affected spatial patterns of vegetation and soil fertility in a desert steppe. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2010, 138(3/4): 282-292.
- [35] 朱平, 陈仁升, 宋耀选, 刘光琇, 陈拓, 张威. 祁连山不同植被类型土壤微生物群落多样性差异. 草业学报, 2015, 24(6): 75-84.
- [36] Liu Z F, Fu B J, Zheng X X, Liu G H. Plant biomass, soil water content and soil N: P ratio regulating soil microbial functional diversity in a temperate steppe: a regional scale study. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(3): 445-450.
- [37] Waid J S. Does soil biodiversity depend upon metabiotic activity and influences? *Applied Soil Ecology*, 1999, 13(2): 151-158.
- [38] 周桔, 雷霆. 土壤微生物多样性影响因素及研究方法的现状与展望. 生物多样性, 2007, 15(3): 306-311.
- [39] Callaway R M, Brooker R W, Choler P, Kikvidze Z, Lortie C J, Michalet R, Paolini L, Pugnaire F I, Newingham B, Aschehoug E T, Armas C, Kikodze D, Cook B J. Positive interactions among alpine plants increase with stress. *Nature*, 2002, 417(6891): 844-848.
- [40] Růsi ňa S, Pušpure I, Gusti ňa L. Diversity patterns in transitional grassland areas in floodplain landscapes with different heterogeneity. *Tuexenia*, 2013, 33(1): 347-369.
- [41] 任正飏, 朱清科, 张恰吟, 马欢, 黄正佳. 陕北黄土区坡面微地形对乔木空间分布的影响. 林业科学研究, 2016, 29(3): 389-394.