

DOI: 10.5846/stxb201811062405

及利, 杨雨春, 王君, 杨立学. 不同土地利用方式下酚酸物质与土壤微生物群落的关系. 生态学报, 2019, 39(18): - .

Ji L, Yang Y C, Wang J, Yang L X. Relationship between soil phenolic acids and the soil microbial community under different land uses. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(18): - .

# 不同土地利用方式下酚酸物质与土壤微生物群落的关系

及利<sup>1,2</sup> 杨雨春<sup>2</sup> 王君<sup>2</sup> 杨立学<sup>1,\*</sup>

1 森林生态系统可持续经营教育部重点实验室, 东北林业大学林学院, 哈尔滨 150040

2 吉林省林业科学研究院, 长春 130033

**摘要:** 酚酸物质是影响微生物生物量和群落结构的重要因子之一, 研究酚酸物质在不同土地利用方式下的变化规律及其与微生物群落结构的关系, 有助于更好地理解不同土地利用方式下微生物群落变化的作用机制。本研究以山河屯林业局奋斗林场次生林(SF)、落叶松人工林(LP)、农田地(FL)和撂荒地(AL)为研究对象, 测定不同土地利用方式下 0—5 cm、5—10 cm 和 10—20 cm 层的土壤总酚、复合态酚、水溶性酚和 9 种酚酸物质, 并采用磷脂脂肪酸法(PLFA)测定这 4 种土地利用方式的土壤微生物群落。结果表明, 各土层的落叶松人工林土壤总酚含量显著高于其他三种土地利用方式。在 0—5 cm 和 5—10 cm 土层中, 落叶松人工林土壤水溶性酚含量最高, 而在 10—20 cm 土层中, 则是次生林显著高于其余三种土地利用方式( $P < 0.05$ )。在 0—5 cm 土层中, 次生林土壤的总 PLFA、真菌含量比农田地和撂荒地分别高 14.61%、80.91% 和 55.63%、156.55%, 同时, 次生林的土壤真菌:细菌(F:B)显著高于落叶松人工林、农田地和撂荒地( $P < 0.05$ )。0—5 cm 层和 5—10 cm 层的土壤总酚与微生物群落(细菌、真菌)分别呈正相关和负相关关系, 而在 10—20 cm 层, 三种土壤酚类物质与微生物群落均未达到显著相关( $P > 0.05$ )。冗余分析表明, 0—5 cm 层土壤中的阿魏酸、2,4-二羟基苯甲酸和  $\beta$ -谷甾醇均对真菌群落和 F:B 有显著影响( $P < 0.05$ ), 而在 10—20 cm 层中, 只有  $\beta$ -谷甾醇影响了微生物群落的生长。土地利用方式的变化改变了表层土壤的酚酸物质含量和微生物群落结构, 酚酸物质对表层土壤各类群的微生物量有明显的促进作用, 但抑制了深层土壤微生物的生长。

**关键词:** 土地利用方式; 酚酸物质; 微生物群落; 磷脂脂肪酸

## Relationship between soil phenolic acids and the soil microbial community under different land uses

Ji Li<sup>1,2</sup>, YANG Yuchun<sup>2</sup>, WANG Jun<sup>2</sup>, YANG Lixue<sup>1,\*</sup>

1 Key Laboratory of Sustainable Forest Ecosystem Management—Ministry of Education, School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

2 Jilin Academy of Forestry, Changchun 130033, China

**Abstract:** Presence of phenolic acids is one of the most important factors that influences the soil microbial community. Investigating changes in phenolic acid composition and its relationship to the soil microbial community structure under different land uses can contribute to a better understanding of mechanisms of microbial community change under different land uses. In this study, we selected natural secondary forest (SF), larch plantation (LP), farm land (FL), and abandoned land (AL) as research sites in the Shanhetun Forestry Bureau. Phospholipid fatty acid (PLFA) approaches were employed to detect the soil microbial community structure among the four land uses. The soil total phenol, complex phenol,

**基金项目:** 中央高校基本科研基金项目(2572016EAJ1); 国家重点研发计划(2017YFD0601204)

**收稿日期:** 2018-11-06; **网络出版日期:** 2019-00-00

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ylx\_0813@163.com

water-soluble phenol, and nine phenolic acids in 0—5 cm, 5—10 cm, and 10—20 cm depth soil layers in plots at all land use sites were determined. Our findings were that the total soil phenol content in LP was significantly higher than in soil under other land uses in each of the soil layers tested. Water-soluble phenol content in the 0—5 cm and 5—10 cm soil layers in LP were high for the four land uses, while the water-soluble phenol content was highest in SF in 10—20 cm layer ( $P < 0.05$ ). In the 0—5 cm soil layer, the total PLFA and fungal content of SF were 14.61%, 80.91%, 55.63% and 156.55% higher than that of FL and AL respectively. Meanwhile, the ratio of fungi to bacteria (F:B) in SF was higher than for other land uses ( $P < 0.05$ ). Total phenol had a positive and negative relationship with the microbial community (bacteria and fungi) in the 0—5 cm and 5—10 cm layers, respectively, while there was no significant correlation between the three soil phenolic substances and the microbial community in the 10—20 cm layer ( $P > 0.05$ ). Redundancy analysis showed that ferulic acid, 2,4-dihydroxybenzoic acid, and  $\beta$ -sitosterol in the 0—5 cm layer had significant effects on the fungal community and F:B ( $P < 0.05$ ), but in 10—20 cm layer soil, only  $\beta$ -sitosterol affected the growth of microbial communities. Changes to land use affected the content of phenolic acids and the microbial community structure in top soil. Phenolic acids significantly promoted microbial communities in the top soil, but inhibited microbial growth at greater soil depths.

**Key Words:** land use; phenolic acids; microbial community; phospholipid fatty acid

土地利用是人类干预土壤质量最重要、最直接的活动,它长期持续地改变着土壤结构、养分以及土壤生物的代谢活动,进而使土壤供应植物的营养水平发生变化<sup>[1]</sup>。土地利用的变化对陆地生态系统的生物地球化学循环进程有重要的影响<sup>[2-4]</sup>,土地利用方式的改变影响着土壤养分的循环与供应,直接造成土壤质地和地下微生物群落结构的变化,调整着陆地生态系统的结构与功能<sup>[5-7]</sup>。

土壤微生物对土地利用的变化十分敏感,Potthast 等<sup>[8]</sup>通过对厄瓜多尔南部地区森林、放牧草原和撂荒地的比较分析发现,森林和撂荒地的微生物活性较低,草原的微生物量碳含量为 3445 mg/kg,是森林和撂荒地的 3 倍以上。Tischer 等<sup>[9]</sup>认为土地利用方式和土层深度对微生物生态化学计量有显著的影响,相比与微生物碳:氮(C:N),随着土层深度增加,微生物氮:磷(N:P)和碳:磷(C:P)有显著升高的趋势。Song 等<sup>[10]</sup>发现与原始森林相比,次生林和人工林的真菌、细菌和总微生物量有显著降低的趋势,植被群落和土壤制度的差异导致了微生物群落的变化。土壤干扰对微生物群落结构有重要的影响,未割草的休耕地下的微生物 PLFA 浓度高于割草处理和撂荒地的,与施肥相比,土地利用方式对微生物生物量和群落结构有更显著的影响,休耕地下的革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌( $G^+/G^-$ )和真菌/细菌(F:B)显著高于 4 种施肥处理<sup>[11]</sup>。

通过地上植被的皆伐和火烧等措施,在土地利用方式的转变或森林植被类型的转换过程中伴随着土壤养分的遗留作用,该作用也影响着地下微生物的变化,与植被和土壤质量相比,土地利用历史对微生物有着更加显著的影响<sup>[12-14]</sup>。在一定程度上,养分遗留造成的变化与植物合成存留在土壤中的次生代谢产物对微生物的影响有关。酚酸物质不仅对植物生长有促进或抑制作用,而且对微生物的分布区系也有显著影响<sup>[15-19]</sup>。Qu 和 Wang<sup>[20]</sup>通过向大豆土壤施加 2,4-二叔丁基苯酚和香草酸,发现酚酸处理后对真菌有显著影响而对细菌则只有轻微的变化。Stringlis 等<sup>[21]</sup>发现具有抗菌活性的根系分泌物香豆素调控微生物群落的变化,抑制病原体尖孢镰刀菌及黄萎病菌的生长。Zhou 等<sup>[22]</sup>认为 *p*-香豆素能分别降低和增高细菌和真菌群落的多样性,能够抑制有利于植物生长的微生物的生长,如 *Lysobacter*, *Haliangium* 和 *Gymnoascus* spp.。然而,大多数研究在酚酸与微生物群落之间的关系方面只关注于室内试验添加外源酚酸的研究,而野外自然条件下酚酸与微生物群落的关系却鲜见报道。及利等<sup>[23]</sup>发现采煤沉陷区不同树种恢复造林过程中,阿魏酸、松香酸和  $\beta$ -谷甾醇对微生物量有明显的促进作用,与真菌和真菌/细菌(F:B)存在显著正相关关系。

众多学者研究了不同土地利用方式条件下微生物群落结构与土壤酶、土壤养分生态化学计量、pH 的关系<sup>[24-27]</sup>,而由于根系分泌、凋落物分解和地上淋溶等作用产生的土壤酚类物质与微生物群落结构的关系还鲜

见报道。凋落物和根系分泌物对微生物提供碳源,细菌和真菌将其分解,间接地改变了土壤 pH 和养分比例,尤其是 C:N。因此,我们大胆地假设不同土地利用方式中的土壤酚类物质与土壤微生物的相关程度密切。本研究旨在探究四种不同土地利用方式下不同形态的土壤酚类物质和 9 种具体的酚酸物质与土壤微生物之间的关系,为酚类物质在土壤中的作用以及对微生物的影响提供依据,以期为更好地理解土地利用方式变化对微生物群落影响的作用机制提供一定的理论基础。

## 1 研究地区与研究方法

### 1.1 研究区概况

研究地点位于龙江森林工业集团总公司山河屯林业局奋斗林场(127°22′—127°24′E,46°21′—46°37′N)。该地区地处中温带大陆性季风气候区,冬季干燥寒冷,夏季湿润炎热,年平均气温在 2.7—3.0℃之间,极端最低气温-42℃,极端最高气温 36℃,平均年降水量达 600—800 mm,无霜期 110—128 d,土壤类型为 Hap-Boric Luvisol<sup>[28]</sup>。

### 1.2 试验设计及取样方法

2014 年 7 月中下旬,在奋斗林场试验地选择立地条件一致的次生林(SF)、20 年生落叶松纯林(LP)、农田地(FL)、撂荒地(AL),每个土地利用方式内分别设置 3 个 20 m × 30 m 的样方,各样方自距离不超过 1000 m (表 1)。样方四角用木桩做好标记,便于取样。次生林的主要乔木树种有蒙古栎(*Quercus mongolica*)、水曲柳(*Fraxinus mandshurica*)、落叶松(*Larix gmelinii*)、红松(*Pinus koraiensis*)、春榆(*Ulmus davidiana* var. *japonica*)等,主要灌木为暴马丁香(*Syringa reticulata* var. *amurensis*)、山荆子(*Malus baccata*)、茶条槭(*Acer ginnala*)、色木槭(*Acer mono*)、稠李(*Padus racemosa*)等,主要草本为东北茶藨子(*Ribes mandshuricum*)、水金凤(*Impatiens noli-tangere*)、木贼(*Equisetum hyemale*)、蚊子草(*Filipendula palmata*)等;落叶松人工林林分密度为 1300 株·ha<sup>-1</sup>,主要草本为鸡树条菜蓂(*Viburnum sargentii* Koehne)、水金凤(*Impatiens noli-tangere*)、木贼(*Equisetum hyemale*)、悬钩子(*Rosa rubus*)等。农田地主要种植玉米,耕作超过 10 年以上。撂荒地撂荒超过 5 年以上,无乔木和灌木生长,主要草本为水金凤(*Impatiens noli-tangere*)、木贼(*Equisetum hyemale*)悬钩子(*Rosa rubus*)等。4 种土地利用方式的坡度均在 5—10°之间。

2014 年 8 月初,在每个样方内随机选取 5 个样点,用土钻取 0—5 cm、5—10 cm 和 10—20 cm 层的土样(土钻口径×深度为 10×20 cm),装于自封袋中放入便携式冰箱中低温保存运回(FD-1A-50 Boyikang Experiment Instruments Co., Beijing)。将取得的部分土样过 2 mm 筛(10 目)后冻干,之后置于-80℃冰箱保存,用于测定磷脂脂肪酸种类和含量;将部分土样风干,用于酚类物质以及酚酸物质含量的测定。

### 1.3 酚类物质的测定

土壤总酚、复合态酚和水溶性酚含量的测定参照叶发茂<sup>[29]</sup>的方法使用福林酚法测定。

表 1 4 种不同土地利用方式的主要特征(0—20 cm 层)

Table 1 Characteristic of four different land uses (0—20 cm layer)

变量 Variables	土地利用方式 Land use			
	次生林 SF	落叶松人工林 LP	农田地 FL	撂荒地 AL
有机碳 Organic carbon/(mg/g)	56.40±7.46a	41.34±4.02b	36.88±4.74b	35.15±0.84b
全氮 Total nitrogen/(mg/g)	6.21±1.50a	5.24±0.66ab	4.25±0.84b	3.34±0.43b
全磷 Total phosphorus/(mg/g)	0.44±0.10a	0.26±0.05b	0.40±0.08a	0.46±0.12a
C:N	8.99±0.22	7.70±0.74	9.07±1.18	10.79±1.03
pH	5.19±0.10b	5.60±0.29ab	6.15±0.20a	5.27±0.13b
土壤含水量 Soil moisture/%	0.34±0.05a	0.29±0.04ab	0.28±0.02ab	0.23±0.01b
土壤容重 Bulk density/(g/cm <sup>3</sup> )	1.54±0.09a	1.52±0.04a	1.69±0.09a	1.59±0.04a

不同字母代表差异显著( $P < 0.05$ )

#### 1.4 9种酚酸物质含量的测定

样品的测定采用高效液相色谱法(HPLC),高效液相色谱仪为 Agilent 1200,色谱柱为 Zorbax SB-C<sub>18</sub>反相柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),土壤中不同物质的 HPLC 检测条件和检测方法不尽相同,根据相关文献的记载和实践验证<sup>[23]</sup>,综合得出改进后的方法分别测定阿魏酸、2,4-二羟基苯甲酸、间苯三酚等 9 种酚酸物质(表 2)。

#### 1.5 磷脂脂肪酸(PLFA)的测定

土壤微生物群落采取磷脂脂肪酸(PLFA)方法进行测定。磷脂脂肪酸的提取方法主要参照 Frostegard 的方法<sup>[30]</sup>。测试仪器为气象色谱质谱联用仪(GC-MS, Varian 450-GC and Varian 240-MS),GC 条件:石英毛细管柱 DB-5(30 m×0.25 mm,膜厚 0.25 μm),柱温 60℃。每种处理称取 1 g 土样,样品提取所用溶剂均为分析纯,十九酸甲酯标准品购于美国 AccuStandard 有限公司,所有玻璃器皿使用前用正己烷润洗。

通过将标准物质十九酸甲酯的相对保留时间及质谱图与数据库中进行对比,来确定 PLFAs 的含量。PLFAs 的定量由内标法确定。脂肪酸 12:0、14:0、15:0、16:0、17:0、18:0、20:0、i15:0、a15:0、i17:0、10Me18:0、16:1ω7、16:1ω9c、18:1ω9、cy17:0、cy19:0 代表细菌<sup>[31,32]</sup>,18:1ω9c、18:1ω9 代表真菌<sup>[33,34]</sup>。

#### 1.6 数据处理

采用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS19.0 软件处理数据。采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)检验不同处理之间的差异(LSD,α=0.05)。线性方程拟合采用逐步回归法;相关分析采用 Pearson 法(双侧检验)。应用 Canoco for Windows 4.5 软件对酚酸物质与土壤微生物间的关系进行冗余分析(Redundancy analysis, RDA),用 R 语言 vegan 包分析酚酸物质对微生物群落的贡献。在 SigmaPlot 12.0 软件中作图。所有数据为平均值±标准误。

表 2 9种酚酸物质的 HPLC 测定条件

Table 2 HPLC conditions for determination of nine phenolic acids

酚酸物质 Phenolic acids	流动相 Mobile phase	检测波长 Test wave length/nm	进样量 Sample size/μL	流速 Flow rate/ (mL/min)	检测时间 Test time/ min	保留时间 Retention time/min	线性方程 Linear equation	拟合度 Regression degree
阿魏酸 Ferulic acid	甲醇:3%冰醋酸=25:75	280	10	1.0	15	10.86	$Y=30.267X-6.0675$	1
2,4-二羟基苯甲酸 2,4-dihydroxybenzoic acid	甲醇:3%冰醋酸=25:75	280	10	1.0	15	5.61	$Y=13.315X-12.803$	0.9999
7-羟基香豆素 7-hydroxycoumarin	甲醇:3%冰醋酸=25:75	280	10	1.0	15	8.90	$Y=15.465X+0.137$	0.9999
松香酸 Abietic acid	甲醇:3%冰醋酸=95:5	241	10	1.0	6	4.12	$Y=2.0288X+0.1701$	0.9993
β-谷甾醇 β-sitosterol	甲醇	205	20	1.0	13	9.63	$Y=7.8103X-0.5669$	0.9999
齐墩果酸 Oleanolic acid	甲醇:水=95:5	210	10	0.6	15	4.80	$Y=11.516X+0.5391$	0.9992
莽草酸 Shikimic acid	甲醇:1%磷酸水溶液=15:85	213	10	1.0	5	5.22	$Y=40.292X+1.6745$	0.9999
肉桂酸 Cinnamic acid	乙腈:0.1%磷酸水溶液=30:70	284	10	1.0	5	1.42	$Y=72.026X+5.8678$	0.9999
间苯三酚 Phloroglucinol	乙腈:水=50:50	248	10	1.0	3	1.32	$Y=1.8626X+0.7095$	0.9999

X: 酚酸物质的浓度 Concentration of phenolic acids; Y: 峰面积 Peak area

## 2 结果与分析

### 2.1 不同土地利用方式下土壤酚类物质和酚酸物质的变化特征

不同土地利用方式之间的土壤总酚和水溶性酚含量存在显著差异(图 1,  $P<0.05$ )。落叶松人工林土壤各土层的总酚含量最高( $P<0.05$ ),0—5 cm 层中,分别比次生林、农田地和撂荒地高 44.88%、63.62%、112.01%。在 0—5 cm 和 5—10 cm 层中,落叶松人工林土壤水溶性酚含量显著高于其余三种土地利用方式( $P<0.05$ ),而在 10—20 cm 层中,则是次生林最高( $P<0.05$ )。总体上,随着土层深度的加深,四种土地利用方式下土壤总酚和复合态酚含量呈逐渐降低的趋势。

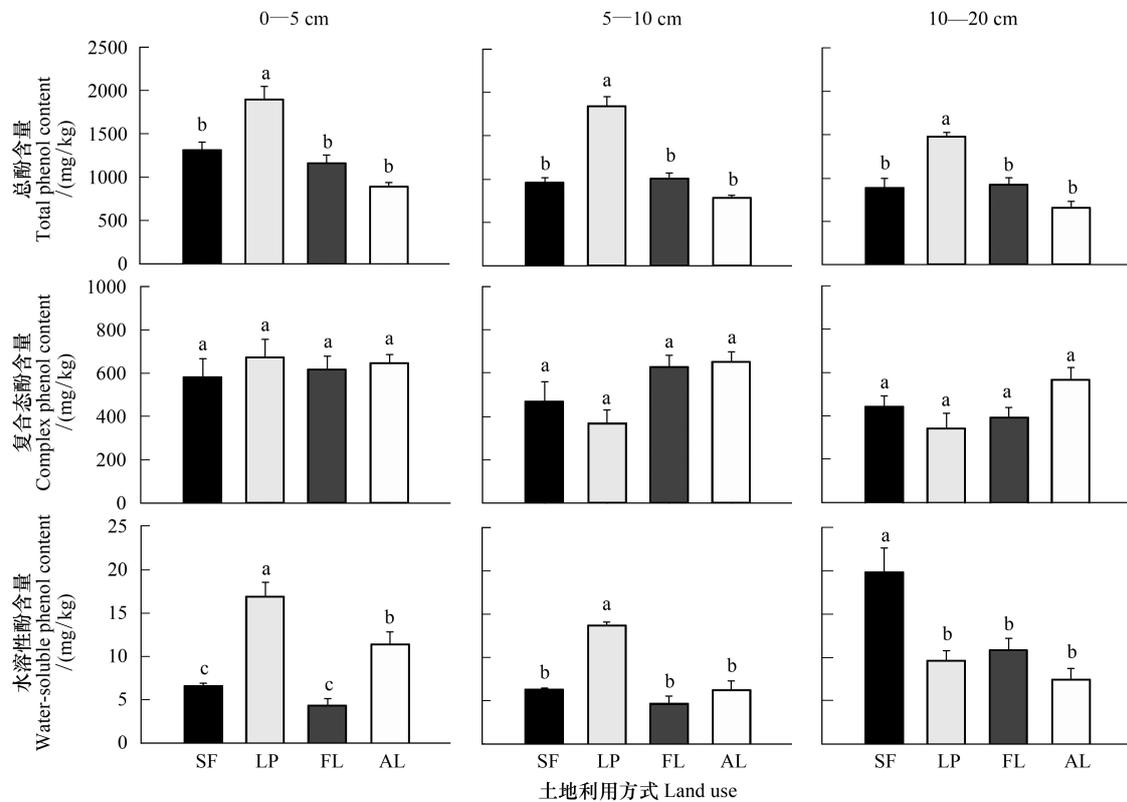


图 1 不同土地利用方式下土壤总酚、复合态酚和水溶性酚含量的垂直分布

Fig.1 The vertical distribution of soil total phenol, complex phenol and water-soluble phenol content under different land uses

不同字母代表差异显著 ( $P < 0.05$ ); SF、LP、FL 和 AL 分别代表次生林、落叶松人工林、农田地和撂荒地

4 种土地利用方式下,9 种酚酸物质含量差异显著 ( $P < 0.05$ , 表 3)。总体上,间苯三酚、莽草酸、肉桂酸和  $\beta$ -谷甾醇在各种土地利用方式中的含量较高。在 0—5 cm 层中, $\beta$ -谷甾醇在次生林中的含量最高且显著高于其他三种土地利用方式,香豆素和肉桂酸在农田地中的含量最高且显著高于撂荒地,松香酸在撂荒地中的含量最高,撂荒地中松香酸的含量显著高于其他土地利用方式。

总体上,随着土层深度的加深,阿魏酸、2,4-二羟基苯甲酸、香豆素、 $\beta$ -谷甾醇和莽草酸的含量呈逐渐减小的趋势,而肉桂酸在不同土层深度之间则变化不明显,齐墩果酸含量表现为先降低后升高的趋势;随着土层的加深,松香酸含量在次生林中表现为先升高后降低,在落叶松和农田地中的表现为先降低后升高,在撂荒地表现为持续降低的趋势;间苯三酚的含量在天然林表现为逐渐降低的趋势,在落叶松和农田地表现为先降低后升高,在撂荒地则表现为先升高后降低的趋势(表 3)。

## 2.2 不同土地利用方式下土壤微生物群落的变化

土地利用方式对土壤微生物群落存在显著影响(图 2,  $P < 0.05$ )。在 0—5 cm 层,落叶松人工林的总 PLFA、细菌和真菌含量分别为 105.80、91.02 和 9.43 nmol/g,显著高于农田地和撂荒地 ( $P < 0.05$ ),而 F:B 则是次生林最大,显著高于其余三种土地利用方式 ( $P < 0.05$ )。在 5—10 cm 层中,次生林的土壤总 PLFA 和细菌群落显著高于落叶松人工林,分别高 135.23% 和 131.59% ( $P < 0.05$ )。总体上,随着土层深度的加深,次生林和落叶松人工林的真菌和 F:B 呈逐渐降低的趋势。

## 2.3 土壤酚类物质与土壤微生物群落的相关性

土壤总酚和水溶性酚与土壤微生物群落存在显著的相关关系 ( $P < 0.05$ , 图 3)。在 0—5 cm 层中,土壤总酚与总 PLFA 和细菌含量极显著正相关 ( $P < 0.01$ ),与真菌含量显著正相关 ( $P < 0.05$ ),而在 0—5 cm 层土壤中的复合态酚和水溶性酚与各微生物类群均不存在相关性。在 5—10 cm 层中,土壤总酚和水溶性酚与总 PLFA

表 3 四种土地利用方式下不同土层中 9 种酚酸物质含量/( $\mu\text{g}/\text{g}$ )

土地利用方式 Land use	土层深度/cm Soil depth/cm	阿魏酸 Ferulic acid	2,4-二羟 苯甲酸 2,4-dihydroxy benzoic acid	7-羟基香豆素 7-hydroxy coumarin	松香酸 Abietic acid	$\beta$ -谷甾醇 $\beta$ -sitosterol	齐墩果酸 Oleanolic acid	莽草酸 Shikimic acid	肉桂酸 Cinnamic acid	间苯三酚 Phloroglucinol
次生林 Natural second forest	0—5	2.31±0.19a	40.26±3.62a	9.85±2.20a	13.35±1.86b	120.29±25.74a	8.45±1.20b	28.97±7.66ab	30.90±2.34ab	84.71±97.42a
落叶松人工林 Larch plantation	0—5	2.06±0.34a	39.02±8.28a	10.47±1.35a	35.72±1.00b	70.52±7.55b	13.39±2.07a	24.10±4.44b	18.05±2.23b	53.21±69.37ab
农田地 Farm land	0—5	0.96±0.14b	25.94±5.82ab	13.45±3.56a	46.02±3.15b	34.16±7.23b	—	43.68±6.99a	36.30±9.59a	82.18±171.99a
撂荒地 Abandoned land	0—5	0.48±0.13b	11.20±1.81b	2.19±0.86b	93.65±21.93a	40.31±8.71b	3.14±0.40c	22.72±2.86b	26.27±1.77ab	31.16±86.07b
次生林 Natural second forest	5—10	0.95±0.23a	13.26±3.20a	3.65±1.20a	18.94±4.78b	28.59±6.60a	4.83±1.35a	21.65±3.32ab	28.56±1.94b	49.89±122.38a
落叶松人工林 Larch plantation	5—10	0.33±0.04b	7.60±1.42a	1.91±0.17a	30.39±1.73b	26.65±8.02a	5.08±2.98a	15.56±2.06b	18.86±2.20c	25.48±12.95b
农田地 Farm land	5—10	0.49±0.16ab	9.33±2.37a	3.30±0.98a	8.94±0.37b	23.77±4.64a	4.65±0.59a	29.25±4.94a	36.66±2.52a	32.61±65.47ab
撂荒地 Abandoned land	5—10	0.57±0.06ab	9.69±1.08a	2.42±0.38a	91.15±13.12a	39.1±8.37a	—	24.16±2.53ab	23.65±2.22bc	33.20±20.39ab
次生林 Natural second forest	10—20	0.83±0.25a	5.89±2.42a	2.13±0.76a	14.14±6.78b	16.86±4.62a	5.83±2.09ab	19.29±1.02ab	27.39±1.68b	26.75±113.26a
落叶松人工林 Larch plantation	10—20	0.59±0.01ab	4.88±1.27a	1.66±0.65ab	37.49±7.22ab	12.93±5.57ab	8.33±0.55a	15.77±1.96b	19.63±0.96c	30.14±129.71a
农田地 Farm land	10—20	0.46±0.02ab	4.57±0.75a	2.25±0.10a	17.78±4.96b	10.98±2.51ab	3.20±0.30b	21.97±1.05a	35.41±1.36a	44.41±50.22a
撂荒地 Abandoned land	10—20	0.34±0.04b	3.73±0.76a	0.40±0.06b	65.06±21.62a	3.84±1.10b	7.67±1.17a	21.23±1.60a	24.58±0.87b	19.44±80.03a

不同字母代表差异显著( $P<0.05$ )

和细菌群落均呈极显著的负相关关系 ( $P < 0.01$ ), 且水溶性酚与微生物群落的相关性要高于总酚的。总体上, 0—10 cm 层土壤中的酚类物质与微生物联系密切, 而 10—20 cm 的深层土中酚类物质并不起主要作用。

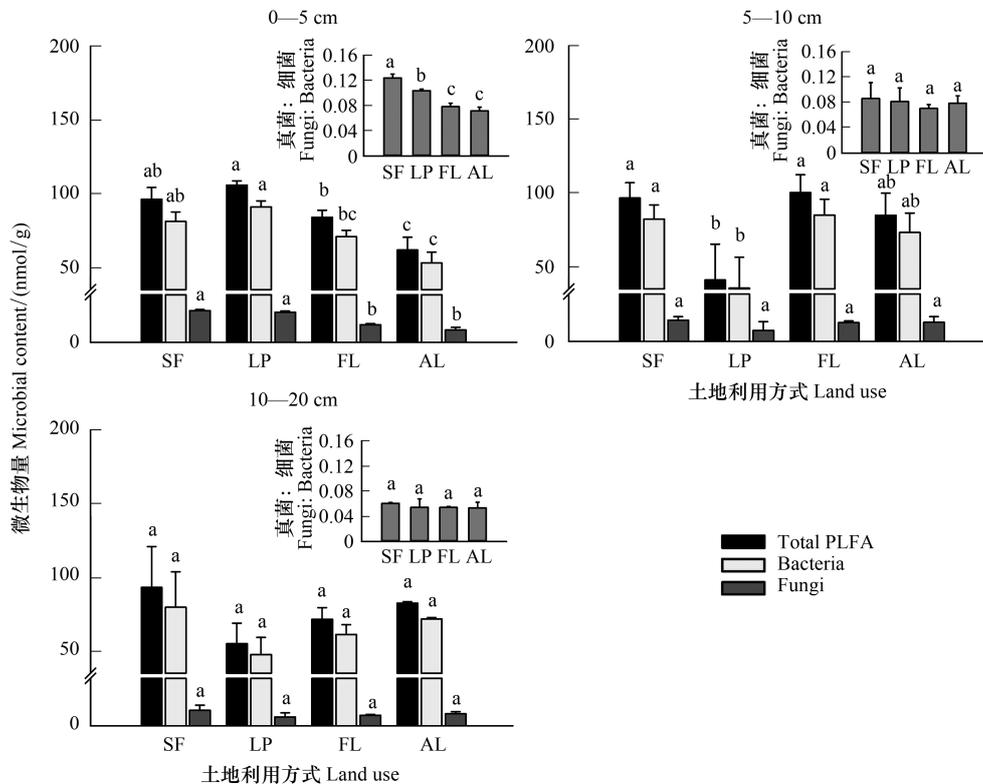


图 2 不同土地利用方式下土壤微生物含量的垂直分布

Fig.2 The vertical distribution of soil microbial content under different land uses

嵌入的图表示 4 种土地利用方式下真菌:细菌

## 2.4 9 种酚酸物质与土壤微生物群落的相关分析

分别对 0—5 cm 层和 10—20 cm 层的土壤 PLFA 与土壤酚酸物质进行冗余分析, 把各土层中的 9 种酚酸物质与微生物群落做偏蒙特卡洛检验, 每个土层的两个排序轴均解释了总变异的 90% 以上, 说明这两个排序轴在某种程度上能反映酚酸物质对微生物群落影响的大部分信息 (图 4)。但不同酚酸物质在不同土层之间的表现不同, 其中, 在 0—5 cm 层中, 阿魏酸、2,4-二羟基苯甲酸和  $\beta$ -谷甾醇与真菌和 F:B 呈显著正相关关系 ( $P < 0.05$ ), 在 10—20 cm 层中,  $\beta$ -谷甾醇与 F:B 存在显著正相关关系 ( $P < 0.05$ )。

土壤酚酸物质与微生物群落的 Pearson 相关分析表明, 不同种类酚酸物质对土壤微生物群落的影响程度不同, 同一种酚酸物质在不同土层之间对微生物的作用也存在明显差异 (表 4)。其中, 在 0—5 cm 层中, 阿魏酸、2,4-二羟基苯甲酸和齐墩果酸与总 PLFA、细菌和真菌群落存在显著的正相关关系, 且阿魏酸对真菌群落的影响较大 ( $P < 0.01$ ); 在 10—20 cm 层中, 酚酸物质与微生物群落不存在明显的相关关系, 只有  $\beta$ -谷甾醇与 F:B 达到显著正相关的水平 ( $P < 0.05$ )。本研究在 5—10 cm 层的酚酸物质均不显著, 且通过冗余分析的结果, 10—20 cm 层的大部分酚酸并未发挥主要作用。

## 3 讨论

由于地上植被群落、地表凋落物分解速率和人为活动干扰程度等方面存在差异, 土地利用方式改变了固有的土壤微生物群落区系<sup>[10,12,27,35-37]</sup>。本研究中, 0—5 cm 层中, SF 的总 PLFA 和真菌含量显著高于 FL 和 AL, 而在 5—10 cm 层和 10—20 cm 层中则未达到显著水平, 而 0—5 cm 层中, AL 的细菌群落含量显著低于 SF

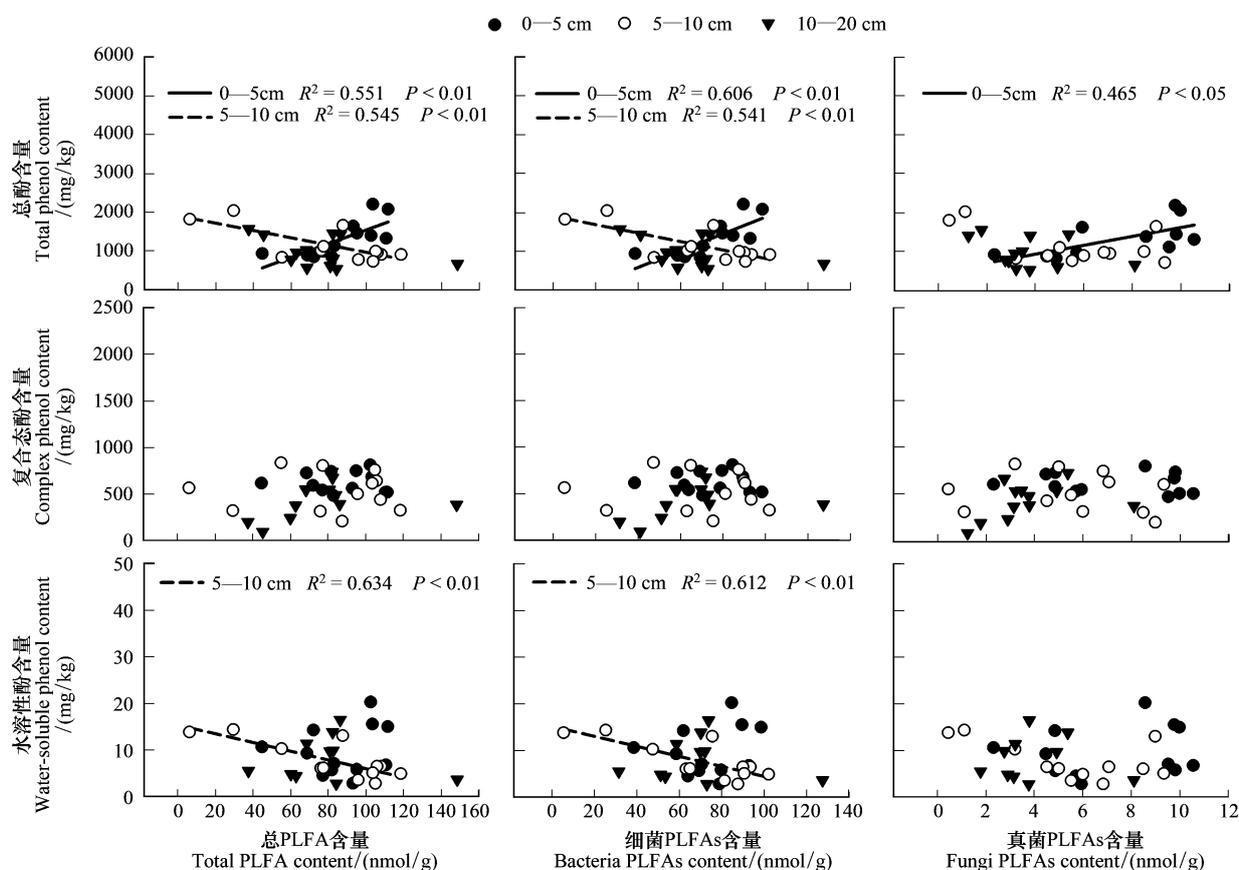


图3 土壤总酚、复合态酚和水溶性酚与土壤微生物群落的线性回归分析

Fig.3 The linear regression analysis between soil microbial community and soil total phenol, complex phenol, water-soluble phenol respectively

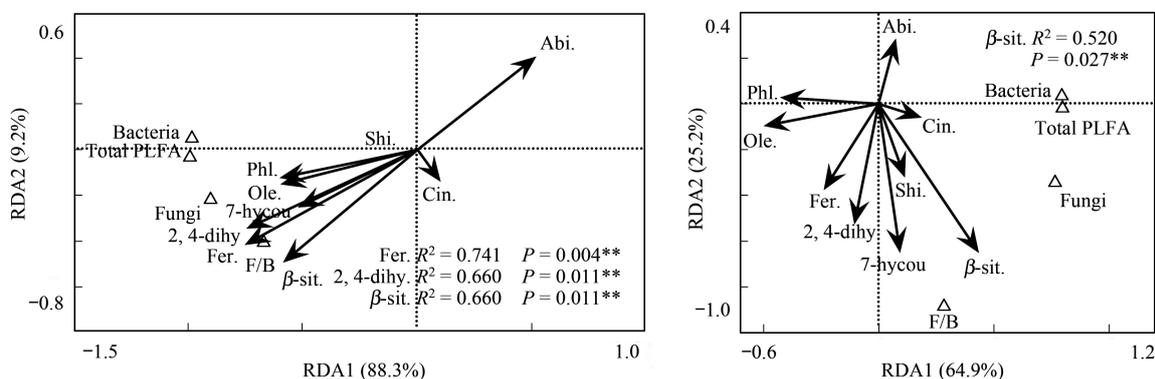


图4 土壤酚酸物质与土壤微生物群落的冗余分析

Fig.4 Redundancy analysis of soil phenolic acids and soil microbial communities

(a)代表0—5 cm层;(b)代表10—20 cm层;(a) represents 0—5 cm layer;(b) represents 10—20 cm layer; Fer.: 阿魏酸 Ferulic acid; 2,4-dihy.: 2,4-二羟基苯甲酸 2,4-dihydroxybenzoic acid; 7-hycou.: 7-羟基香豆素 7-hydroxycoumarin; Abi.: 松香酸 Abietic acid;  $\beta$ -sit.:  $\beta$ -谷甾醇  $\beta$ -sitosterol; Ole.: 齐墩果酸 Oleanolic acid; Shi.: 莽草酸 Shikimic acid; Cin.: 肉桂酸 Cinnamic acid; Phl.: 间苯三酚 Phloroglucinol

和 LP ( $P < 0.05$ , 图 2), 这说明土地利用方式的变化对表层土壤微生物群落的改变有显著作用, 而对亚表层土壤则影响较小。Zhang 等<sup>[38]</sup>人研究表明, 在次生林向落叶松人工林转变过程中, 由于土壤酸化和有效养分含量的降低, 土地利用方式对土壤表层(0—10 cm 层)微生物群落影响较大。我们发现 0—5 cm 层中, 林地的 F:

B 显著高于 FL 和 AL ( $P < 0.05$ , 图 2), 这可能是与不同土地利用方式下的养分转换和归还、林地的枯枝落叶质量和数量比耕地和荒地高有关, 这与众多学者研究结果吻合<sup>[26,27,39]</sup>。同时, 土壤干扰对微生物群落结构有重要的影响, F:B 能快速地对土地管理制度的变化做出快速的反应, 其比值越高, 生态系统越稳定, 同时氮的流失速率降低<sup>[40]</sup>。Bailey 等<sup>[39]</sup>认为经过耕作的土壤与自然管理或未耕作的土壤相比, 有更低的真菌含量。

表 4 9 种酚酸物质与土壤微生物群落的 Pearson 相关分析

Table 4 The Pearson correlation analysis between soil microbial community nine kinds of phenolic acids respectively

土壤酚酸物质 Soil phenolic acids	土层深度 Soil depth/cm	总 PLFA Total PLFA	细菌 Bacteria	真菌 Fungi	真菌/细菌 F:B
阿魏酸 Ferulic acid	0—5	0.754 **	0.738 **	0.922 **	0.882 **
2,4-二羟基苯甲酸 2,4-dihydroxybenzoic acid	0—5	0.739 **	0.723 **	0.845 **	0.776 **
7-羟基香豆素 7-hydroxycoumarin	0—5	0.537	0.503	0.438	0.343
松香酸 Abietic acid	0—5	-0.532	-0.512	-0.673 *	-0.651 *
$\beta$ -谷甾醇 $\beta$ -sitosterol	0—5	0.580 *	0.557	0.764 **	0.733 **
齐墩果酸 Oleanolic acid	0—5	0.583 *	0.592 *	0.742 **	0.681 *
莽草酸 Shikimic acid	0—5	0.095	0.077	-0.041	-0.085
肉桂酸 Cinnamic acid	0—5	-0.088	-0.114	-0.177	-0.165
间苯三酚 Phloroglucinol	0—5	0.612 *	0.588 *	0.481	0.351
阿魏酸 Ferulic acid	10—20	-0.178	-0.192	-0.066	0.167
2,4-二羟基苯甲酸 2,4-dihydroxybenzoic acid	10—20	-0.079	-0.095	0.106	0.438
7-羟基香豆素 7-hydroxycoumarin	10—20	0.086	0.058	0.229	0.445
松香酸 Abietic acid	10—20	0.061	0.074	-0.005	-0.103
$\beta$ -谷甾醇 $\beta$ -sitosterol	10—20	0.358	0.337	0.541	0.595 *
齐墩果酸 Oleanolic acid	10—20	-0.399	-0.394	-0.252	0.107

\*\*  $P < 0.01$ ; \*  $P < 0.05$

通过植物和草食动物取食等产生的次生代谢物质影响着植物与土壤、地上与地下的交互作用, 尤其是影响微生物的代谢活动, 酚类物质是土壤中重要的次生代谢产物之一, 对土壤中的养分转换和循环以及微生物群落结构产生影响<sup>[15,41]</sup>。本研究中, 0—5 cm 层的土壤总酚与土壤总 PLFA、细菌和真菌群落均达到显著正相关关系, 而 5—10 cm 层中, 土壤总酚和水溶性酚均与土壤总 PLFA 和细菌群落存在显著负相关关系 ( $P < 0.05$ , 图 3), 这是因为由于地表凋落物分解作用, 表层土壤的酚类物质含量远高于深层土壤的, 而土壤酚类物质对土壤有效养分和土壤酶活的变化性有重要作用, 进而对土壤微生物群落产生影响<sup>[42]</sup>。酚类物质能抑制与土壤硝化作用有关的微生物类群, 降低土壤硝化作用的强度<sup>[43]</sup>, Blum<sup>[44]</sup>发现在营养充足的条件下, 酚酸容易被微生物利用表现出自毒作用, 从而引起土壤微生物数量密度的改变。林地(尤其针叶林)的腐殖层有大量抑制性化合物, 降低凋落物分解速率, 减缓土壤团聚体矿化速率, 土壤中的酚酸物质可以减少微生物生物量和活动, 并改变土壤微生物群落结构<sup>[42,45]</sup>。Souto 等<sup>[46]</sup>发现挪威云杉产生的酚酸化合物对微生物活动具有一定的抑制作用。本研究中, 通过将 9 种土壤酚酸物质与土壤微生物群落的进行冗余分析发现, 四种土地利用方式下 0—5 cm 层中, 土壤的酚酸物质与真菌和细菌群落有密切的关系, 且阿魏酸和 2,4-二羟基苯甲酸等物质对微生物群落结构有显著的影响 ( $P < 0.05$ ), 但在 10—20 cm 层中, 微生物群落与酚酸物质间的关系并不紧密, 只有  $\beta$ -谷甾醇与各微生物类群显著相关 ( $P < 0.05$ , 图 4)。Ji 等<sup>[47]</sup>通过向胡桃楸幼苗添加落叶松林地分泌的 2,4-二羟基苯甲酸、阿魏酸、香豆素和松香酸的根际和非根际浓度后, 发现非根际处理下的微生物量要高于根际处理下的, 群落结构也更加丰富, 同时 7-羟基香豆素+2,4-二羟基苯甲酸+阿魏酸和 7-羟基香豆素+阿魏酸处理下的微生物量要显著高于对照。酚酸物质可以显著的影响土壤中微生物的生物量、多样性和群落组成, 能够增强某种特定种类微生物的丰富度<sup>[46-47]</sup>。

#### 4 结论

综上所述, 不同土地利用方式下不同种类的酚酸物质含量存在差异, 酚酸物质与微生物群落存在密切的

关系,相比于 10—20 cm 层,0—5 cm 层土壤真菌和微生物群落结构受酚酸物质作用的影响较大,同时,四种土地利用方式下,0—5 cm 层和 5—10 cm 层的土壤总酚对各群落微生物量的影响分别表现为促进和抑制的作用。我们的研究只关注了在不同土地利用方式下酚类物质和酚酸物质与土壤微生物之间的关系研究,而了解不同土地利用方式下植物碳输入方式的不同对土壤理化性质和地下微生物群落的影响,有利于进一步揭示微生物群落在土地利用方式下的变化机制,因此,未来可开展相关研究来丰富和完善土地利用对微生物群落的影响机制。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] Lauber C L, Strickland M S, Bradford M A, Fierer N. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2407-2415.
- [ 2 ] Guo X P, Chen H Y H, Meng M J, Biswas S R, Ye L X, Zhang J C. Effects of land use change on the composition of soil microbial communities in a managed subtropical forest. *Forest Ecology and Management*, 2016, 373: 93-99.
- [ 3 ] Freschet G T, Östlund L, Kichenin E, Wardle D A. Aboveground and belowground legacies of native Sami land use on boreal forest in northern Sweden 100 years after abandonment. *Ecology*, 2014, 95(4): 963-977.
- [ 4 ] Zhang C, Liu G B, Xue S, Wang G L. Soil bacterial community dynamics reflect changes in plant community and soil properties during the secondary succession of abandoned farmland in the Loess Plateau. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 97: 40-49.
- [ 5 ] Aubert M, Margerie P, Trap J, Bureau F. Aboveground-belowground relationships in temperate forests: Plant litter composes and microbiota orchestrates. *Forest Ecology and Management*, 2010, 259(3): 563-572.
- [ 6 ] Burton J, Chen C R, Xu Z H, Ghadiri H. Soil microbial biomass, activity and community composition in adjacent native and plantation forests of subtropical Australia. *Journal of Soils and Sediments*, 2010, 10(7): 1267-1277.
- [ 7 ] Wu Y T, Gutknecht J, Nadrowski K, Geißler C, Kühn P, Scholten T, Both S, Erfmeier A, Böhnke M, Bruelheide H, Wubet T, Buscot F. Relationships between soil microorganisms, plant communities, and soil characteristics in Chinese subtropical forests. *Ecosystems*, 2012, 15(4): 624-636.
- [ 8 ] Potthast K, Hamer U, Makeschin F. Land-use change in a tropical mountain rainforest region of southern Ecuador affects soil microorganisms and nutrient cycling. *Biogeochemistry*, 2012, 111(1/3): 151-167.
- [ 9 ] Tischer A, Potthast K, Hamer U. Land-use and soil depth affect resource and microbial stoichiometry in a tropical mountain rainforest region of southern Ecuador. *Oecologia*, 2014, 175(1): 375-393.
- [ 10 ] Song P, Ren H B, Jia Q, Guo J X, Zhang N L, Ma K P. Effects of historical logging on soil microbial communities in a subtropical forest in southern China. *Plant and Soil*, 2015, 397(1/2): 115-126.
- [ 11 ] Yu W T, Bi M L, Xu Y G, Zhou H, Ma Q, Jiang C M. Microbial biomass and community composition in a Luvisol soil as influenced by long-term land use and fertilization. *Catena*, 2013, 107: 89-95.
- [ 12 ] Jangid K, Williams M A, Franzluebbers A J, Schmidt T M, Coleman D C, Whitman W B. Land-use history has a stronger impact on soil microbial community composition than aboveground vegetation and soil properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(10): 2184-2193.
- [ 13 ] Kulmatiski A, Beard K H. Decoupling plant-growth from land-use legacies in soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(5): 1059-1068.
- [ 14 ] Kulmatiski A, Beard K H. Long-term plant growth legacies overwhelm short-term plant growth effects on soil microbial community structure. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(4): 823-830.
- [ 15 ] Blum U, Shafer S R. Microbial populations and phenolic acids in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1988, 20(6): 793-800.
- [ 16 ] Weidenhamer J D, Romeo J T. Allelochemicals of *Polygonella myriophylla*: chemistry and soil degradation. *Journal of Chemical Ecology*, 2004, 30(5): 1067-1082.
- [ 17 ] Yang L X, Wang P, Kong C H. Effect of larch (*Larix gmelini* Rupr.) root exudates on Manchurian walnut (*Juglans mandshurica* Maxim.) growth and soil juglone in a mixed-species plantation. *Plant and Soil*, 2010, 329(1/2): 249-258.
- [ 18 ] Yang L X, Yan X F, Kong C H. Allelopathic potential of root exudates of larch (*Larix gmelini*) on Manchurian walnut (*Juglans mandshurica*). *Allelopathy Journal*, 2007, 20(1): 127-134.
- [ 19 ] Zhang J, Salahuddin, Yuan H, Yang L X, Wang H R, You L X. Effects of larch (*Larix gmelinii*) phenolic acids on Manchurian ash (*Fraxinus mandshurica*) soil microbial community structure. *Allelopathy Journal*, 2016, 37(1): 123-135.
- [ 20 ] Qu X H, Wang J G. Effect of amendments with different phenolic acids on soil microbial biomass, activity, and community diversity. *Applied Soil Ecology*, 2008, 39(2): 172-179.
- [ 21 ] Stringlis I A, Yu K, Feussner K, De Jonge R, Van Bentum S, Van Verk M C, Berendsen R L, Bakker P A H M, Feussner I, Pieterse C M J. MYB72-dependent coumarin exudation shapes root microbiome assembly to promote plant health. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(22): E5213-E5222.
- [ 22 ] Zhou X G, Zhang J H, Pan D D, Ge X, Jin X, Chen S C, Wu F Z. *p*-Coumaric can alter the composition of cucumber rhizosphere microbial

- communities and induce negative plant-microbial interactions. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54(3): 363-372.
- [23] 及利, 杨立学. 采煤沉陷区不同造林树种恢复土壤酚酸物质对土壤微生物的影响. *应用生态学报*, 2017, 28(12): 4017-4024.
- [24] Acosta-Martínez V, Zobeck T M, Gill T E, Kennedy A C. Enzyme activities and microbial community structure in semiarid agricultural soils. *Biology and Fertility of Soils*, 2003, 38(4): 216-227.
- [25] Bååth E, Anderson T H. Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(7): 955-963.
- [26] Högberg M N, Högberg P, Myrold D D. Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees, or all three? *Oecologia*, 2007, 150(4): 590-601.
- [27] Rousk J, Brookes P C, Bååth E. Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(6): 1589.
- [28] IUSS Working Group WRB. World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015. International Soil Classification System for Naming Soils and Creating Legends for soil Maps. Rome: FAO, 2015.
- [29] 叶发茂. 土壤酚类物质对森林生态系统转换的响应及其机制研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2009.
- [30] Frostegård Å, Tunlid A, Bååth E. Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. *Journal of Microbiological Methods*, 1991, 14(3): 151-163.
- [31] 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.
- [32] Kimura M, Asakawa S. Comparison of community structures of microbiota at main habitats in rice field ecosystems based on phospholipid fatty acid analysis. *Biology and Fertility of Soils*, 2006, 43(1): 20-29.
- [33] Zogg G P, Zak D R, Ringelberg D B, White D C, MacDonald N W, Pregitzer K S. Compositional and functional shifts in microbial communities due to soil warming. *Soil Science Society of America Journal*, 1997, 61(2): 475-481.
- [34] Tornberg K, Bååth E, Olsson S. Fungal growth and effects of different wood decomposing fungi on the indigenous bacterial community of polluted and unpolluted soils. *Biology and Fertility of Soils*, 2003, 37(3): 190-197.
- [35] Lagerlöf J, Adolfsson L, Börjesson G, Ehlers K, Vinyoles G P, Sundh I. Land-use intensification and agroforestry in the Kenyan highland: Impacts on soil microbial community composition and functional capacity. *Applied Soil Ecology*, 2014, 82: 93-99.
- [36] Fu X L, Yang F T, Wang J L, Di Y B, Dai X Q, Zhang X Y, Wang H M. Understorey vegetation leads to changes in soil acidity and in microbial communities 27 years after reforestation. *Science of the Total Environment*, 2015, 502: 280-286.
- [37] Wan X H, Huang Z Q, He Z M, Yu Z P, Wang M H, Davis M R, Yang Y S. Soil C:N ratio is the major determinant of soil microbial community structure in subtropical coniferous and broadleaf forest plantations. *Plant and Soil*, 2015, 387(1/2): 103-116.
- [38] Zhang W W, Zhu Z T, Yang K, Zhu J J. Impacts of conversion from secondary forests to larch plantations on the structure and function of microbial communities. *Applied Soil Ecology*, 2017, 111: 73-83.
- [39] Bailey V L, Smith J L, Bolton Jr H. Fungal-to-bacterial ratios in soils investigated for enhanced C sequestration. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(7): 997-1007.
- [40] 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.
- [41] Castaldi S, Carfora A, Fiorentino A, Natale A, Messere A, Miglietta F, Cotrufo M F. Inhibition of net nitrification activity in a Mediterranean woodland: possible role of chemicals produced by *Arbutus unedo*. *Plant and Soil*, 2009, 315(1/2): 273-283.
- [42] 林开敏, 叶发茂, 林艳, 李卿叁. 酚类物质对土壤和植物的作用机制研究进展. *中国生态农业学报*, 2010, 18(5): 1130-1137.
- [43] 吴萼, 刘晓艳, 祝心如. 酚酸类化合物各基团对土壤中氮的硝化作用的影响. *环境化学*, 1999, 18(5): 398-403.
- [44] Blum U. Effects of microbial utilization of phenolic acids and their phenolic acid breakdown products on allelopathic interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 1998, 24(4): 685-708.
- [45] 谢星光, 陈晏, 卜元卿, 戴传超. 酚酸类物质的化感作用研究进展. *生态学报*, 2014, 34(22): 6417-6428.
- [46] Souto C, Pellissier F, Chiapusio G. Allelopathic effects of humus phenolics on growth and respiration of mycorrhizal fungi. *Journal of Chemical Ecology*, 2000, 26(9): 2015-2023.
- [47] Li J, Salahuddin, Zhang J, You L X, He C T, Yang L X. Larch (*Larix gmelinii*) bulk soil phenolic acids promote manchurian walnut (*Juglans manshurica*) growth and soil microorganism biomass. *Pakistan Journal of Botany*, 2016, 48(6): 2549-2556.