

DOI: 10.5846/stxb201906241331

韩晓丽, 黄春国, 张芸香, 郭晋平. 文峪河上游河岸带不同植被类型土壤 *nirS* 反硝化菌群结构及功能. 生态学报, 2020, 40(6): 1977-1989.

Han X L, Huang C G, Zhang Y X, Guo J P. *nirS*-type denitrifiers community composition and function in different riparian vegetation types in upper Wenyuhe watershed. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(6): 1977-1989.

文峪河上游河岸带不同植被类型土壤 *nirS* 反硝化菌群结构及功能

韩晓丽^{1,2}, 黄春国³, 张芸香^{1,2}, 郭晋平^{1,2,*}

1 山西农业大学, 林学院, 太谷 030801

2 北方功能油料树种培育与研发山西省重点实验室, 太谷 030801

3 山西农业大学农学院, 太谷 030801

摘要:以文峪河上游河岸带不同演替阶段的 8 种植被类型五花草甸(WH)、沙棘林(HR)、柳树林(SS)、山杨林(PC)、山杨白桦林(PQ)、山杨白桦落叶松林(PQL)、落叶松云杉林(LP)和云杉林(PM)土壤为研究对象,采用高通量测序技术测定 *nirS* 反硝化细菌群落组成及相对丰度,乙炔抑制法测定反硝化酶活性(DEA)。对其土壤理化性质及反硝化细菌群落组成及相对丰度进行方差分析,采用冗余分析(RDA)和 Spearman 相关性分析不同植被类型及土层反硝化细菌群落结构及功能及土壤理化因子的关联性。结果表明:1) 不同植被类型及土层土壤理化因子存在显著差异,柳树林(SS)0—15 cm 土层硝态氮(NO_3^- -N)含量显著高于其他植被类型各土层;2) 土壤反硝化菌群多样性指数在五花草甸(WH)、山杨白桦林(PQ)和云杉林(PM)中较其他植被类型高;3) 沙棘林(HR)及柳树林(SS)反硝化酶活性(DEA)显著高于其他植被类型;4) 不同植被类型反硝化优势菌群分布存在显著差异及特异性,如浮霉菌门(Planctomycetes)仅在落叶松云杉混交林(LP)和云杉林(PM)植被类型 15—30 cm 土层中分布;5) 土壤 pH、土壤有机碳(SOC)、土壤铵态氮(NH_4^+ -N)和硝态氮(NO_3^- -N)等是影响土壤反硝化细菌群落结构及组成的重要因子,其中土壤铵态氮和硝态氮含量变化是导致土壤反硝化菌群多样性和反硝化酶活性差异的关键因子。本研究揭示了文峪河上游河岸带不同植被类型土壤反硝化细菌群落结构及功能的变化和分布特征,为进一步研究该区域河岸带氮素循环及水体污染防治提供重要参考依据。

关键词:文峪河上游;河岸带;植被类型;反硝化细菌群落结构;反硝化酶活性

nirS-type denitrifiers community composition and function in different riparian vegetation types in upper Wenyuhe watershed

HAN Xiaoli^{1,2}, HUANG Chunguo³, ZHANG Yunxiang^{1,2}, GUO Jinping^{1,2,*}

1 College of Forestry, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China

2 Shanxi Key Laboratory of Functional Oil Tree Cultivation and Research, Taigu 030801, China

3 College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China

Abstract: In this study, 8 vegetation types, including Multi-flower meadow (WH), Hippophae shrub (HR), Salix shrub (SS), Poplar forest (PC), Poplar birch forest (PQ), Poplar birch and larch forest (PQL), Larix and picea forest (LP) and Picea forest (PM), were selected from different succession stages in the upper Wenyuhe watershed. We aim to determine soil denitrifying bacterial community composition and abundance by using Illumina Miseq high-throughput sequencing method. Meanwhile, acetylene inhibition method was adopted to evaluate soil denitrifying enzyme activities (DEA). The ANOVA analysis on denitrifiers community composition and abundance was carried out consequentially. The correlation coefficient of soil properties and denitrifiers community composition and function were derived through both redundancy analysis (RDA) and spearman correlation analysis. The results showed that 1) *nirS*-type denitrifiers community

基金项目:国家自然科学基金面上项目(20970480);山西省重点研发计划专项(2018LYCX32);山西农业大学科技创新基金项目(20132-14)

收稿日期:2019-06-24; **网络出版日期:**2019-12-27

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jinpinguo412@163.com

composition and function significantly differed in different vegetations types and soil layers. Nitrate contents ($\text{NO}_3^+\text{-N}$) in SS 0—15 cm soil layer were significantly higher than those in other vegetation types. 2) *nirS*-type denitrifiers diversity index of the WH, PQ and PM were significantly higher than that of other vegetation types. 3) Denitrifying enzyme acitivity (DEA) in HR and SS were significantly higher than that in other vegetation types. 4) Soil denitrifying bacterial diversity and dominant taxa were unique distribution in different vegetations types, such as Planctomycetes was uniquely distribution in 15—30 cm soil layer of LP and PM vegetations. 5) Soil pH, soil organic carbon, ammonium and nitrate nitrogen contents were all important factors influencing soil denitrifiers community structure and composition. Particularly, changes of soil ammonium and nitrate nitrogen were two key factors that could seriously contributed to the variation of soil denitrifying bacterial diversity and enzyme activity. We revealed that characteristics of soil denitrifying bacterial community structure and function among different vegetation types in riparian zone of upper Wenyuhe watershed. It will provide important references for further study of nitrogen cycle and water pollution prevention and control on riparian zones in this region.

Key Words: upper Wenyuhe; riparian; vegetations; denitrifiers composition; DEA

河岸带植物群落是介于河流生态系统和陆地生态系统之间的关键功能型森林群落系统,是二者之间进行物质循环、能量转化和信息交换的重要过渡区域,在维持流域景观稳定性和生态安全方面发挥着重要作用^[1-3]。河岸带植物群落演替过程,不仅受河岸带高度复杂地形地貌等生境条件影响,还受到洪水引起的侵蚀和沉积的干扰^[4],使得整个流域河岸带植物群落类型呈现出明显的演替差异。而处于不同演替阶段的河岸带植被类型,对整个流域生态系统发挥着独特的水文功能和生态功能^[5-6]。

氮素是导致水体污染的主要元素,容易引起水体富营养化,破坏河流生态系统平衡,甚至直接威胁人类健康^[7];河岸带植物群落系统可通过植物吸收、转换和土壤微生物反硝化作用等过程实现对氮素的截留和转化^[8]。河岸带由于地处河流边缘,会经常处于水饱和状态,其土壤环境容易形成缺氧条件,发生厌氧状态下的土壤反硝化作用。土壤反硝化作用是土壤氮素循环重要生物学过程,是土壤微生物将 NO_3^- 还原成 N_2 或 N_2O 的重要过程^[9];不同演替阶段的河岸带植被类型,其土壤反硝化作用和对氮素截留和转化能力呈现出一定差异^[10]。土壤反硝化作用不仅与土壤通气状况^[11]、理化性质^[12]等因素有关,还与反硝化细菌群落结构组成及丰度含量有关^[13]。

为阐明文峪河上游河岸带氮素滤除机制,特别是反硝化作用及其影响的环境因子间的作用关系。本文以该地区河岸带不同演替阶段的植被类型为研究对象,对土壤主要理化性质、反硝化菌群多样性及群落组成和反硝化酶活性等进行分析,揭示不同植被类型土壤反硝化菌群多样性及群落组成和反硝化酶活性变化规律,并解析差异变化与土壤主要理化性质的关联性,阐明土壤反硝化菌群多样性及群落组成与河岸带植物群落演替的控制关系,为进一步研究该区域河岸带氮素循环及水体污染防治提供重要参考依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

文峪河,属于黄河支流汾河的支流,全长 155 km,其上游段自发源地关帝山主峰孝文山南麓庞泉沟起始至文峪河水库一段,称中西河,位于吕梁山脉中段关帝山林区的庞泉沟国家级自然保护区内。该保护区位于山西省交城、文水、方山、娄烦等县交界处,地理坐标为 $111^\circ 22' - 111^\circ 33' \text{ E}$, $37^\circ 45' - 37^\circ 55' \text{ N}$,海拔 1600—2831 m。气候属于受季风影响和控制的暖温带大陆性山地气候,年平均气温 4.2°C ,年平均降雨量 822.6 mm,主要集中在 7—9 月,占全年总量的 83% 以上。土壤类型从低海拔到高海拔 (1650—2830 m) 依次为山地褐土、山地淋溶褐土、山地棕壤和亚高山草甸土。区域内植物物种多样性较高,有种子植物 89 科 359 属 809 种^[14];其中河岸带植被优势植物有青杆 (*Picea wilsonii*)、白杆 (*P. meyeri*)、华北落叶松 (*Larix principis-rupprechtii*)、白桦 (*Betula platyphylla*)、山杨 (*Populus cathayana* Rehd.)、沙棘 (*Hippophae rhamnoides*)、密齿柳 (*Salix character* Schneid) 等^[4,15]。

1.2 试验设计和采样

根据已有的调查数据和图面材料,结合实地踏查,于2016年在文峪河上游主河道及支流人为干扰较少的地段,选址设置8种具代表类型的河岸植被类型样地,每种类型选取立地条件相似的3个样地重复,每个样地内设置3个样方,乔木20 m×20 m,灌木10 m×10 m,草本2 m×2 m,样方间距大于10 m,样方内使用“S”型5点采样法,清除土壤表层杂质后,采取0—15 cm(A层)和15—30 cm(B层)不同土层土样,分别分层将5处土壤并混合为一个土样。样品放置于冰袋冷藏箱中运送回实验室。实验室内对土样进行过筛(2 mm)并混匀,去除植物根系和石头等杂质。再采用四分法将每个土样分为两份,一份室内风干用于测定土壤理化指标,一份保存于-70℃冰箱内用于土壤反硝化菌群多样性及群落组成的测定。

同时,依据高润梅^[4]和吉久昌等^[15]关于文峪河上游河岸林演替分析及群落类型研究结果,将本实验8种植被类型归类为6个演替阶段,即:五花草甸(WH, Multi-flower meadow)属于演替I阶段、沙棘灌木林(HR, Hippophae shrub)和柳树灌木林(SS, Salix shrub)群落类型属于演替II阶段、山杨林群落类型(PC, Poplar forest)和山杨白桦混交林(PQ, Poplar birch forest)属于演替III阶段、山杨白桦落叶松混交林(PQL, Poplar birch and larch forest)属于演替IV阶段、落叶松云杉混交林(LP, Larix and picea forest)属于演替V阶段、云杉林群落类型(PM, Picea forest)属于演替VI阶段。样地基本概况见表1。

表1 文峪河上游河岸带不同植被类型采样地概况及优势植物种

Table 1 Environmental conditions and dominant plant species of different riparian vegetation types of upper Wenyuhe watershed

植被类型 Vegetation types	地理位点 Location	海拔 Altitude/m	郁闭度 Canopy density	优势植物种 Dominant plant species
五花草甸 (WH, Multi-flower meadow)	37°51'9"N, 111°27'54"E; 37°51'27"N, 111°29'51"E; 37°51'13"N, 111°27'48"E	1698—1816	—	披针苔草 (<i>Carex lanceolate</i>), 北方蒿草 (<i>Kobresia bellardii</i>), 禾草 (<i>Gramineae</i> grass)、艾蒿 (<i>Artemisia argyi</i> H. Lévl. & Vaniot)、紫花苜蓿 (<i>Medicago sativa</i> L.)
沙棘林 (HR, Hippophae shrub)	37°51'8"N, 111°27'53"E; 37°51'24"N, 111°29'41"E; 37°52'13"N, 111°26'49"E	1815—1820	30%—35%	沙棘 (<i>Hippophae rhamnoides</i>)、歪头菜 (<i>Vicia unijuga</i> A. Br.)、北柴胡 (<i>Bupleurum chinense</i> DC.)、大花韭 (<i>Allium macranthum</i>)
柳树林 (SS, Salix shrub)	37°52'11"N, 111°26'53"E; 37°51'31"N, 111°29'49"E; 37°51'8"N, 111°27'53"E	1881—1924	55%—60%	密齿柳 (<i>Salix character</i> Schneid)、细枝线绣菊 (<i>Spiraea myrtilloides</i> Rehd.)、艾蒿 (<i>A. argyi</i>)、禾草 (<i>Gramineae</i> grass)
山杨林 (PC, Poplar forest)	37°51'22"N, 111°27'33"E; 37°50'50"N, 111°28'22"E; 37°51'48"N, 111°28'22"E	1751—1827	20%—25%	山杨 (<i>Populus cathayana</i> Rehd.)、沙棘 (<i>H. rhamnoides</i>)、刺李 (<i>Rhamnus dumetorum</i> Schneid)、细枝线绣菊 (<i>Spiraea myrtilloides</i> Rehd.)、艾蒿 (<i>A. argyi</i>)、车前 (<i>Plantago asiatica</i> L.)
山杨白桦林 (PQ, Poplar birch forest)	37°51'26"N, 111°27'31"E; 37°51'14"N, 111°27'49"E; 37°51'19"N, 111°27'40"E	1832—1869	25%—30%	山杨 (<i>P. cathayana</i>)、白桦 (<i>Betula paltyphylla</i> Suk.)、胡枝子 (<i>Lespedeza bicolor</i> Turcz.)、细枝线绣菊 (<i>Spiraea myrtilloides</i> Rehd.)、刺果茶藨子 (<i>Ribes burejense</i> Fr. Schmidt)、禾草 (<i>Gramineae</i> grass.)、苔草 (<i>Carex hancockiana</i> Maxim)
山杨白桦落叶松林 (PQL, Poplar birch and larch forest)	37°52'35"N, 111°26'35"E; 37°51'42"N, 111°27'25"E; 37°51'58"N, 111°30'10"E	1801—1950	30%—45%	白桦 (<i>B. paltyphylla</i>)、华北落叶松 (<i>Larix principis-rupprechtii</i> Mayr.)、山杨 (<i>P. cathayana</i>)、辽东栎 (<i>Quercus liaotungensis</i> Koidz.)、披针苔草 (<i>Carex lanceolate</i>)、唐松草 (<i>Thalictrum aquilegifolium</i>)
落叶松云杉林 (LP, Larix and picea forest)	37°52'37"N, 111°26'19"E; 37°52'39"N, 111°26'16"E; 37°50'26"N, 111°27'31"E	2000—2011	60%—65%	华北落叶松 (<i>Larix principis-rupprechtii</i> Mayr.)、白杆 (<i>Picea meyeri</i> Rehd.)、青杆 (<i>Picea wilsonii</i> Mast.)、忍冬 (<i>Lonicera japonica</i> Thunb.)、莢迷 (<i>Viburnum dilatatum</i> Thunb.)、毛榛 (<i>Corylus mandshurica</i> Maxim.)、苔草 (<i>C. hancockiana</i>)、藓类
云杉林 (PM, Picea forest)	37°52'50"N, 111°26'4"E; 37°52'51"N, 111°26'5"E; 37°51'49"N, 111°27'13"E	2013—2019	70%—75%	白杆 (<i>P. meyeri</i>)、青杆 (<i>P. wilsonii</i>)、水栒子 (<i>Cotoneaster multiflorus</i> Bge.)、细枝线绣菊 (<i>Spiraea myrtilloides</i> Rehd.)、苔草 (<i>C. hancockiana</i>)、藓类

1.3 数据测定及分析

土壤理化指标的测定^[16]:土壤含水量采用烘干法(105℃),土壤 pH 值采用电位法,有效磷(AP, mg/kg)采用 Olsen 法测定;NH₄⁺-N 采用靛酚兰比色法测定^[17],NO₃⁻-N 采用紫外分光光度法测定^[18];土壤有机碳(SOC, g/kg)和全氮(TN, g/kg)采用碳氮元素分析仪(Vario Max)测定;土壤反硝化酶活性(denitrifying enzyme activity, DEA)测定采用乙炔抑制法^[19-21]。

土壤反硝化菌群多样性及群落组成采用第二代高通量测序平台(Illumina Miseq)进行测序分析。PCR 扩增采用的是 *nirS* 基因引物: Cd3aF (5'-GTS AACG TSAAGGARACSGG-3') 和 R3cd (5'-GASTTCGGRTGSGTCTTGA-3');扩增反应体系:2 μL 的纯化 DNA,5 μL 的 Q5 反应缓冲液(5×),5 μL 的 Q5 高保真 GC 缓冲液(5×),0.25 μL 的 Q5 高保真 DNA 聚合酶(5U/μL),2 μL 的 dNTPs 液(2.5 mmol/L),上游引物和下游引物(10 μmol/L)各 1 μL,8.75 μL 的去离子水;扩增条件:98℃ 预变性 2 min,98℃ 变性 15 sec,55℃ 退火 30 sec,72℃ 延伸 30 sec,25 个循环,最后 72℃ 延伸 5 min。运用 uclust 软件对序列进行聚类,序列相似性定位 0.97,操作分类单元被认为可能接近于属。使用 QIIME 软件和 R 语言软件包(v3.6.1)进行反硝化菌群 Alpha 多样性分析。

1.4 数据统计与分析

使用 SPSS 20.0 软件对土壤理化性质、土壤反硝化酶活性和菌群多样性及群落组成等数据进行双因素方差分析和多重比较,以及 Spearman 相关性分析;使用 R 3.6.1(vegan)软件包对不同植被类型的土壤理化性质与反硝化菌群多样性及群落组成进行冗余分析(RDA)。

2 结果与分析

2.1 不同植被类型及土层间土壤理化性质

不同植被类型土壤理化性质存在较大差异(表 2),五花草甸(WH)型土壤 pH 显著高于其他植被类型,土壤有机碳(SOC)、速效磷(AP)、土壤含水量(SM)和土壤全氮(TN)等却较低;柳树灌木林(SS)土壤全氮(TN)较高,而土壤 pH 值和铵态氮含量较低;山杨白桦混交林(PQ)土壤铵态氮较高;落叶松云杉混交林(LP)土壤有机碳(SOC)和土壤含水量(SM)较高;云杉林(PM)土壤速效磷(AP)和土壤含水量(SM)较高。同时,土壤

表 2 文峪河上游不同植被类型和土层土壤理化性质

Table 2 Soil physicochemical characteristics different riparian vegetation types of upper Wenyuhe watershed

处理 Treatments	土壤理化性质 Soil physicochemical properties					
	水 pH	有机碳 Soil organic carbon SOC/(g/kg)	速效磷 Available phosphorus AP/(mg/kg)	含水量 Soil moisture SM/%	全氮 Total nitrogen TN/(g/kg)	铵态氮 Ammonium nitrogen NH ₄ ⁺ -N/(mg/kg)
植被类型 Vegetation types						
五花草甸 (WH)	6.72±0.27a	2.04±1.06b	3.74±1.91b	36.60±20.26c	1.50±0.18c	4.31±2.81bc
沙棘灌木林 (HR)	6.46±0.28ab	4.23±1.95ab	6.04±2.45ab	65.80±40.02ab	2.45±1.11bc	7.95±4.43abc
柳树灌木林 (SS)	6.39±0.22b	3.01±1.91ab	4.97±2.32ab	42.15±31.23bc	3.76±0.95a	2.67±1.75c
山杨林 (PC)	6.71±0.22a	2.16±0.92b	4.23±2.20b	44.60±17.39bc	2.75±0.91ab	5.33±4.41abc
山杨白桦混交林 (PQ)	6.57±0.17ab	2.73±1.68ab	5.24±2.83ab	44.07±17.52bc	3.30±1.34ab	10.33±9.14a
山杨白桦落叶松林 (PQL)	6.68±0.19ab	3.55±2.05ab	4.39±2.74b	61.15±13.16ab	2.79±1.05ab	6.53±5.44abc
落叶松云杉混交林 (LP)	6.46±0.28ab	5.23±4.26a	6.04±2.45ab	76.91±30.70a	2.47±1.09bc	10.04±8.21ab
云杉林 (PM)	6.49±0.23ab	4.32±2.16ab	6.39±1.50a	72.12±28.95a	3.10±0.71ab	7.80±6.94abc
土层 Soil layers						
0—15 cm	6.46±0.23B	4.38±2.70A	6.33±2.24A	73.05±26.74A	3.37±1.10A	10.78±6.51A
15—30 cm	6.67±0.24A	2.44±1.46B	3.93±1.95B	37.80±18.80B	2.16±0.77B	2.96±1.90B

植被类型×土层交互作用不显著,但主因子作用均显著。表中数值为平均值±标准差,同一列中不同字母表示彼此在 $P \leq 0.05$ 水平上差异显著(Tukey 检验法);小写字母表示不同植被类型间差异显著,大写字母表示不同土层间差异显著

理化性质在不同土层间差异显著。0—15 cm 土层土壤有机碳 (SOC) 含量、速效磷 (AP)、土壤含水量 (SM)、全氮 (TN) 和铵态氮显著高于 15—30 cm 土壤层,但土壤 pH 显著低于 15—30 cm 土壤。另外,土壤硝态氮受植被类型和土层相互作用的影响(图 1)。其中柳树灌木林 (SS) 群落类型 0—15 cm 土层硝态氮含量显著性高于其他植被类型的各个土层,山杨林 (PC) 0—15 cm 及 15—30 cm 土层、五花草甸 (WH) 15—30 cm 土层硝态氮含量较低,且相互之间差异不显著。

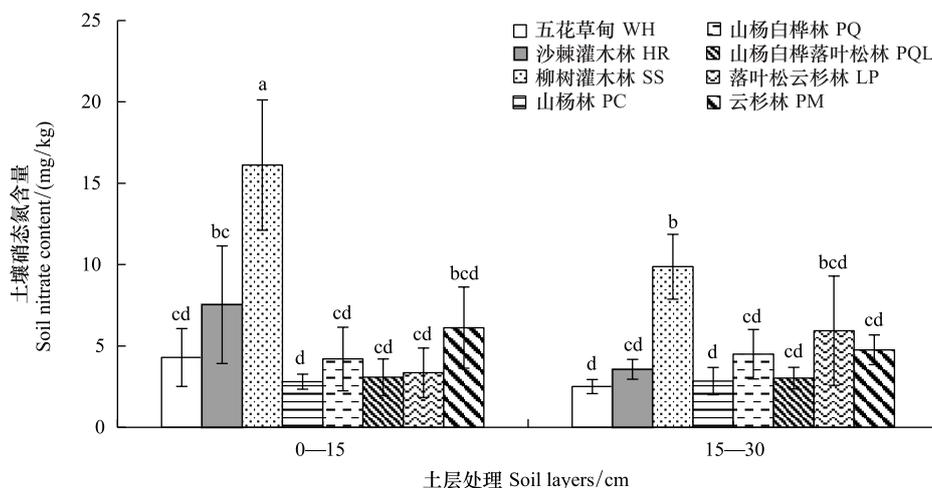


图 1 文峪河上游河岸带不同植被类型和土层土壤硝态氮含量

Fig.1 Soil nitrate content in different riparian vegetations and soil layers of upper Wenyuhe watershed

植被类型×土层交互作用显著 ($P \leq 0.05$). 图中误差线为标准差,每个柱上方字母表示彼此在 $P \leq 0.05$ 水平上差异显著 (Tukey 检验法); WH:五花草甸 Multi-flower meadow; HR:沙棘灌木林 Hippophae shrub; SS:柳树灌木林 Salix shrub; PC:山杨林 Poplar forest; PQ:山杨白桦林 Poplar birch forest; PQL:山杨白桦落叶松林 Poplar birch and larch forest; LP:落叶松云杉林 Larix and picea forest; PM:云杉林 Picea forest

2.2 不同植被类型及土层间土壤反硝化菌群多样性及反硝化酶活性

土壤反硝化菌群多样性受植被类型和土层相互作用的影响(图 2)。沙棘灌木林 (HR) 15—30 cm 土层反硝化菌群多样性 Chao1 指数显著高于其他植被类型各土层,山杨白桦落叶松林 (PQL) 15—30 cm 土层 Chao1 指数最低;云杉林 (PM) 0—15 cm 土层、山杨白桦落叶松林 (PQL) 0—15 cm 土层和五花草甸 (WH) 15—30 cm 土层 Shannon 指数最高,山杨白桦落叶松林 (PQL) 15—30 cm 土层最低,且差异显著。结合植被类型演替分析,土壤反硝化菌群多样性指数变化大致呈“W”型趋势,即五花草甸 (WH) (演替 I 期)、山杨白桦林 (PQ) (演替 III 期) 和云杉林 (PM) (演替 VI 期) 土壤反硝化菌群多样性较高。

土壤反硝化酶活性是反映土壤反硝化功能重要指标。由图 3 可知,土壤反硝化酶活性受植被类型和土层相互作用的影响,演替 II 阶段,沙棘灌木林 (HR) 和柳树灌木林 (SS) 0—15 cm 土层土壤反硝化酶活性最高,其 15—30 cm 土层土壤反硝化酶活性次之,且二者之间差异不显著。即与其他植被类型相比,沙棘灌木林 (HR) 和柳树灌木林 (SS) 土壤反硝化功能较强。结合植被类型演替分析,土壤反硝化酶活性变化呈倒“V”型趋势,即演替 II 期的沙棘灌木林 (HR) 和柳树灌木林 (SS) 土壤反硝化酶活性较强。

2.3 不同植被类型及土层间土壤反硝化菌群落组成及优势菌群

土壤反硝化菌群落组成及优势菌群受植被类型和土层相互作用影响。由图 4 可知,门水平上,土壤反硝化菌群落组成主要包括了变形菌门 (Proteobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、放线菌门 (Actinobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 和浮霉菌门 (Planctomycetes)。其中,变形菌门 (Proteobacteria) 在柳树灌木林 0—15 cm 土层 (SSA) 土壤中相对丰度最高,属于优势菌群,厚壁菌门 (Firmicutes) 是五花草甸 0—15 cm 土层 (WHA) 优势菌群,放线菌门 (Actinobacteria) 在沙棘灌木林 0—15 cm 土层 (HRA) 和柳树灌木林 0—15 cm 土层 (SSA) 属于优势菌群,绿弯菌门 (Chloroflexi) 是山杨白桦落叶松林混交林 0—15 cm 土层 (PQLA) 优势菌群;而浮霉菌门

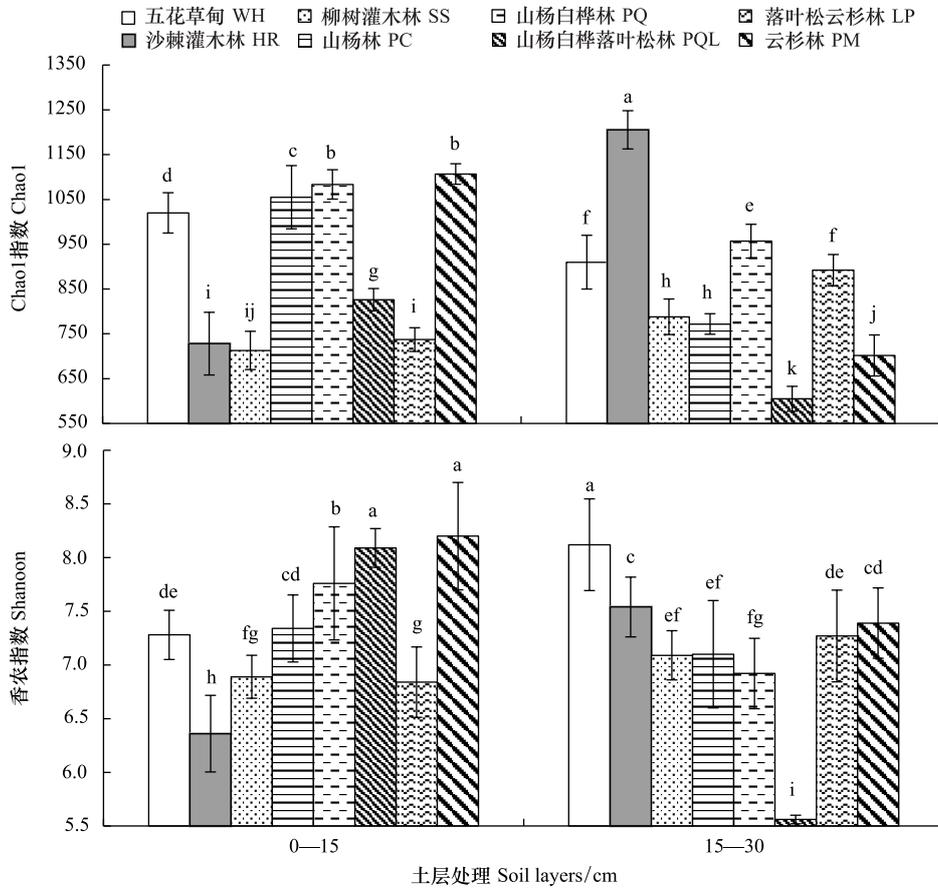


图 2 文峪河上游河岸不同植被类型和土层土壤中反硝化菌群多样性

Fig.2 Soil denitrifying bacterial diversity in different riparian vegetations and soil layers of upper Wenyuhe watershed

植被类型×土层交互作用显著 ($P \leq 0.05$). 图中误差线为标准差, 每个柱上方字母表示彼此在 $P \leq 0.05$ 水平上差异显著 (Tukey 检验法)

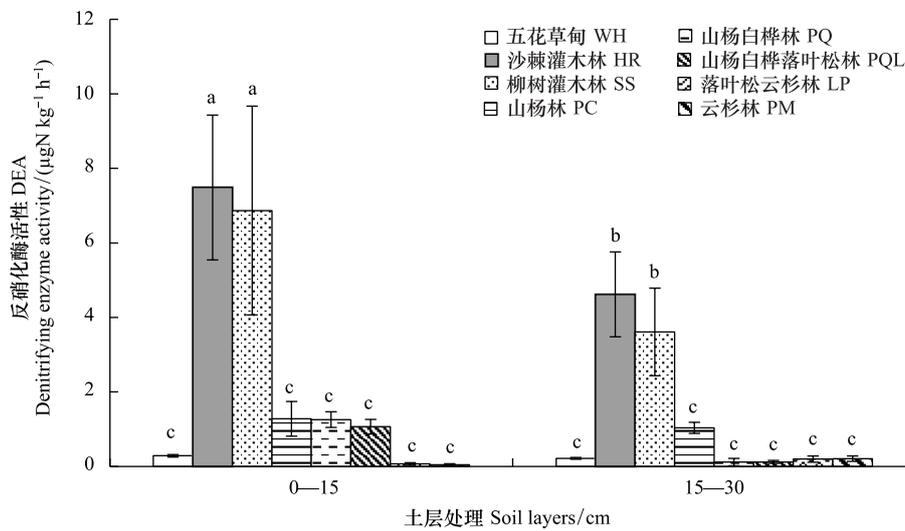


图 3 文峪河上游河岸不同植被类型和土层土壤反硝化酶活性

Fig.3 Denitrifying enzyme activity in different riparian vegetation and soil layers of upper Wenyuhe watershed

植被类型×土层交互作用显著 ($P \leq 0.05$). 图中误差线为标准差, 每个柱上方字母表示彼此在 $P \leq 0.05$ 水平上差异显著 (Tukey 检验法)

(Planctomycetes) 仅在落叶松云杉混交林 15—30 cm 土层(LPB)和云杉林 15—30 cm 土层(PMB)土壤中有分布,且二者之间差异不显著。同时,柳树灌木林 15—30 cm 土层(SSB)和云杉林 15—30 cm 土层(PMB)土壤反硝化菌群组成较丰富,均含有四种不同门的反硝化菌群。其中,柳树灌木林 15—30 cm 土层(SSB)除变形菌门(Proteobacteria)为优势菌群外,仍含有少量的厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi);云杉林 15—30 cm 土层(PMB)土壤中优势菌群为变形杆菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes);而演替 III 期山杨林(PC)和山杨白桦混交林(PQ)土壤中反硝化菌群组成较稀少,仅含有变形杆菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes);云杉林 0—15 cm 土层(PMA)仅有变形杆菌门(Proteobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi)。

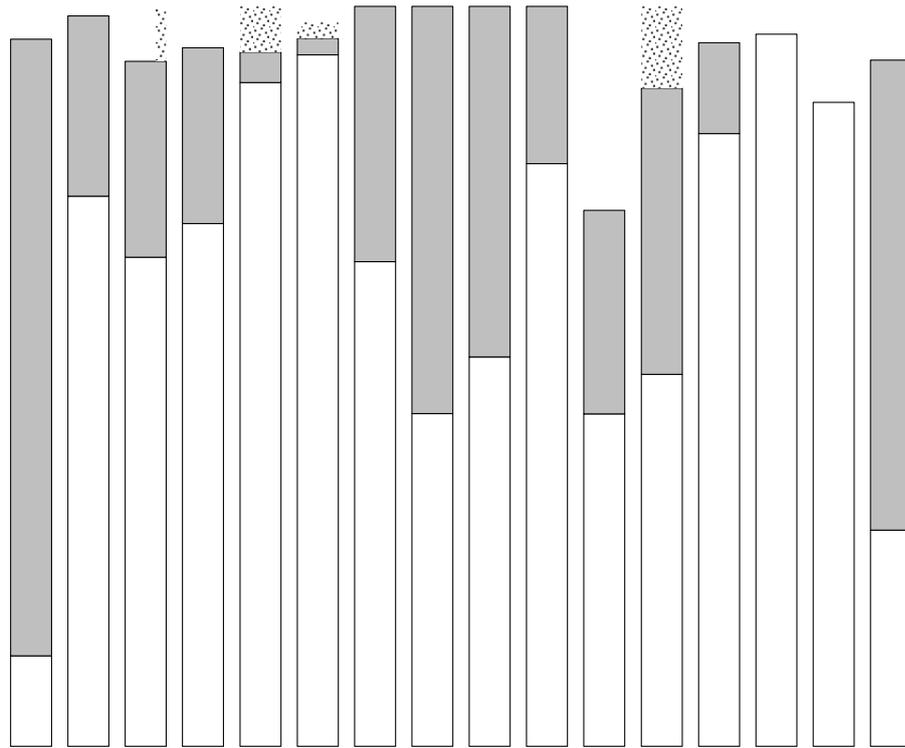


图 4 文峪河上游河岸带不同植被类型土壤 *nirS* 型反硝化菌群相对丰度组成(门水平)

Fig.4 Composition and abundance of *nirS* denitrifiers at phylum level of different riparian vegetations of upper Wenyuhe watershed

柱内字母分别表示同一反硝化细菌门在不同植被类型及土层样本间相对丰度在 $P \leq 0.05$ 水平上差异显著(Tukey 检验法);横坐标标签后加 A 表示 0—15 cm 土层;加 B 表示 15—30 cm 土层

在属水平上,对相对丰度前 10 的属进行分析可知(表 3):五花草甸土壤中芽孢杆菌属(*Bacillus*)在 0—15 cm 土层相对丰度含量较高,贪铜菌属(*Cupriavidus*)在 15—30 cm 土层较高;沙棘灌木林中固氮菌属(*Azoarcus*)和硫针菌属(*Sulfuritalea*)在 0—15 cm 土层中相对丰度较高,红长命菌属(*Rubrivivax*)在 15—30 cm 土层中相对丰度较高;柳树灌木林 0—15 cm 土层(SSA)中罗河杆菌属(*Rhodanobacter*)较高;山杨白桦混交林土壤中固氮螺菌属(*Azospirillum*)和多形菌属(*Polymorphum*)在 0—15 cm 土层相对丰度较高,假单胞菌属(*Pseudomonas*)在 15—30 cm 土层含量较高;落叶松云杉混交林土壤中红长命菌属(*Rubrivivax*)在 0—15 cm 土层中含量较高,固氮螺菌属(*Azospira*)在 15—30 cm 土层中相对丰度较高;云杉林土壤中贪铜菌属(*Cupriavidus*)在 15—30 cm 土层中相对丰度较高。

表 3 文峪河上游河岸不同植被类型和土层土壤中反硝化菌的相对丰度差异(属水平)

Table 3 Abundance of soil denitrifying bacterial (*nirS*) at genus level as influenced by vegetation types and soil layers in upper Wenyuhe watershed (2-way ANOVA)

植被类型 Vegetation types	优势种属 Dominant genera				
	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	固氮螺菌属 <i>Azospirillum</i>	固氮螺菌属 <i>Azospira</i>	红长命菌属 <i>Rubrivivax</i>	罗河杆菌属 <i>Rhodanobacter</i>
五花草甸 0—15 cm (WHA)	0.14d	0.31b	0.02fgh	0.01j	0.09d
沙棘灌木林 0—15 cm (HRA)	0.02h	0.12e	0.10d	0.09cd	0.05ef
柳树灌木林 0—15 cm (SSA)	0.14d	0.02gh	0.19c	0.12ab	0.21a
山杨林 0—15 cm (PCA)	0.32b	0.18d	0.01fgh	0.08def	0.04gh
山杨白桦混交林 0—15 cm (PQA)	0.06fg	0.33a	0.07de	0.03i	0.05fg
山杨白桦落叶松混交林 0—15 cm (PQLA)	0.18c	0.00h	0.00h	0.09de	0.00i
落叶松云杉混交林 0—15 cm (LPA)	0.04gh	0.02g	0.24b	0.13a	0.14b
云杉林 0—15 cm (PMA)	0.07f	0.05f	0.01fgh	0.06gh	0.05ef
五花草甸 15—30 cm (WHB)	0.09e	0.13e	0.05efg	0.05h	0.09d
沙棘灌木林 15—30 cm (HRB)	0.07f	0.02g	0.05ef	0.14a	0.03h
柳树灌木林 15—30 cm (SSB)	0.13d	0.02g	0.26b	0.11bc	0.06e
山杨林 15—30 cm (PCB)	0.05fg	0.28c	0.02fgh	0.06h	0.12c
山杨白桦混交林 15—30 cm (PQB)	0.38a	0.17d	0.04efgh	0.03ij	0.03gh
山杨白桦落叶松混交林 15—30 cm (PQLB)	0.10e	0.12e	0.01gh	0.01j	0.01i
落叶松云杉混交林 15—30 cm (LPB)	0.05fg	0.01gh	0.35a	0.08efg	0.08d
云杉林 15—30 cm (PMB)	0.06fg	0.12e	0.01fgh	0.07fgh	0.03h
植被类型 Vegetation types	固氮弧菌属 <i>Azoarcus</i>	硫针菌属 <i>Sulfuritalea</i>	多形菌属 <i>Polymorphum</i>	贪铜菌属 <i>Cupriavidus</i>	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>
五花草甸 0—15 cm (WHA)	0.08cd	0.02efgh	0.01gh	0.03bcd	0.08a
沙棘灌木林 0—15 cm (HRA)	0.17a	0.18a	0.00h	0.03bc	0.02de
柳树灌木林 0—15 cm (SSA)	0.09bc	0.07c	0.01gh	0.01e	0.00gh
山杨林 0—15 cm (PCA)	0.01h	0.02fgh	0.02fg	0.02de	0.03cd
山杨白桦混交林 0—15 cm (PQA)	0.03f	0.03ef	0.08a	0.02cde	0.04b
山杨白桦落叶松混交林 0—15 cm (PQLA)	0.01h	0.01hi	0.05cd	0.01e	0.01f
落叶松云杉混交林 0—15 cm (LPA)	0.09b	0.03efg	0.02g	0.02bcde	0.01fg
云杉林 0—15 cm (PMA)	0.01h	0.03e	0.06b	0.03b	0.00h
五花草甸 15—30 cm (WHB)	0.09bc	0.06cd	0.02fg	0.06a	0.02def
沙棘灌木林 15—30 cm (HRB)	0.04e	0.11b	0.03ef	0.03bcd	0.02ef
柳树灌木林 15—30 cm (SSB)	0.10b	0.10b	0.01gh	0.01de	0.00h
山杨林 15—30 cm (PCB)	0.01gh	0.02gh	0.04de	0.02bcde	0.04b
山杨白桦混交林 15—30 cm (PQB)	0.02fg	0.01hi	0.04de	0.01e	0.02ef
山杨白桦落叶松混交林 15—30 cm (PQLB)	0.01h	0.00i	0.02g	0.02bcde	0.01f
落叶松云杉混交林 15—30 cm (LPB)	0.07d	0.05d	0.02g	0.02bcde	0.00h
云杉林 15—30 cm (PMB)	0.01gh	0.01hi	0.06bc	0.07a	0.04bc

同一列均值后不同字母表明在 $P \leq 0.05$ 水平上差异显著 (Tukey 检验法)

在属水平上,对不同植被类型土层间土壤反硝化菌群落组成相似度进行聚类树和热图分析可知(图 5): 16 个样本聚类为四大类群。其中,柳树灌木林 15—30 cm 土层(SSB)与落叶松云杉林 0—15 cm 土层(LPA)、云杉林 0—15 cm 土层(PMA)与山杨白桦落叶松混交林 0—15 cm 土层(PQLA)土壤反硝化菌群落组成相似度较高;山杨白桦混交林 15—30 cm 土层(PQB)和山杨林 0—15 cm 土层(PCA),五花草甸 0—15 cm 土层(WHA)和山杨林 15—30 cm 土层(PCB)土壤反硝化菌群落组成较为相似;沙棘灌木林 15—30 cm 土层(HRB)和山杨白桦落叶松混交林 15—30 cm 土层(PQLB)土壤反硝化菌群落组成极为相似;而山杨白桦林 0—15 cm 土层(PQA)土壤反硝化菌群落组成与其他样本相比差异较大。同时,将相对丰度前 50 的属聚类为

5 大类群,分别归属于变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)和浮霉菌门(Planctomycetes)等 5 个门。

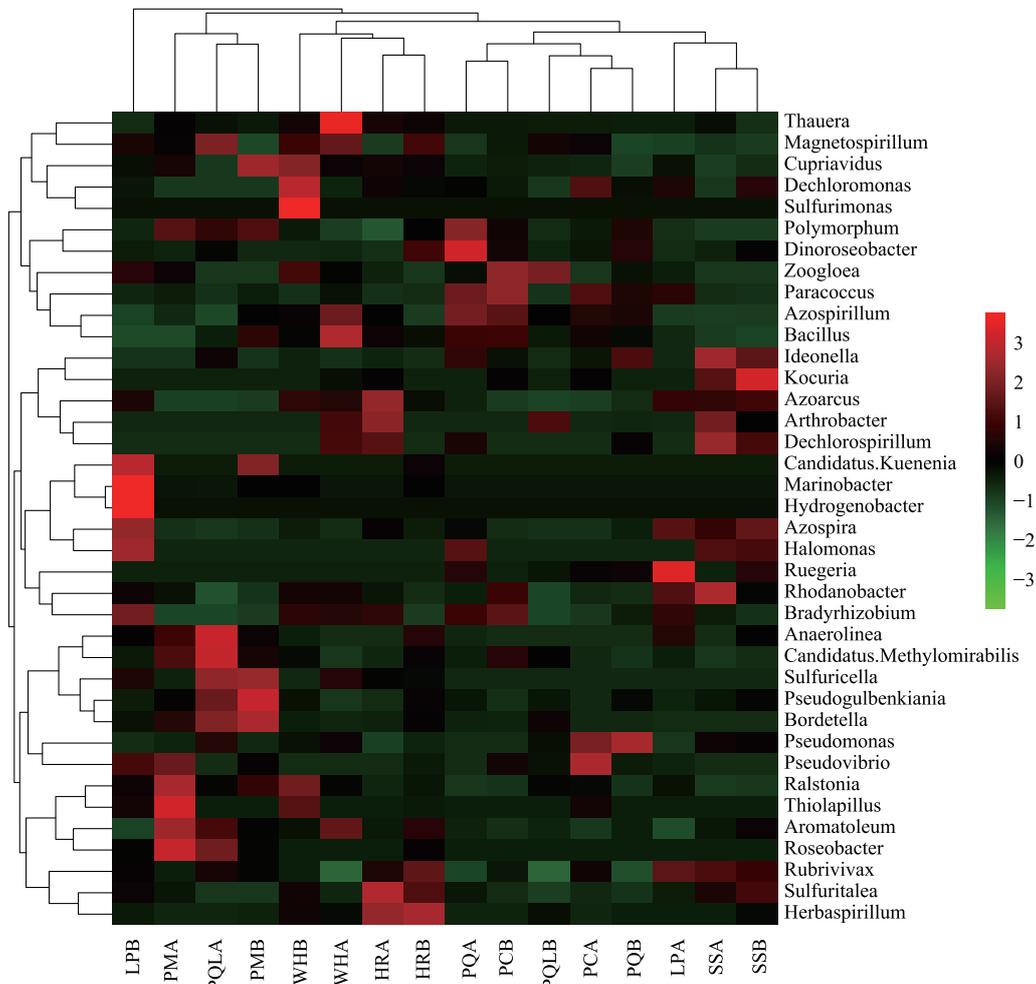


图 5 文峪河上游河岸不同植被类型和土层土壤中反硝化菌优势属聚类热图

Fig.5 Heat map and cluster of dominant denitrifiers at genus level in different riparian vegetation and soil layers of upper Wenyuhe watershed

Nevskia 涅瓦河菌属; *Bacillus* 芽孢杆菌属; *Psychrobacter* 冷杆菌属; *Lactococcus* 乳酸球菌属; *Arthrobacter* 节杆菌属; *Pseudomonas* 假单胞菌属; *Kineococcus* 动球菌属; *Conexibacter* 康奈斯氏杆菌属; *Pseudonocardia* 假诺卡氏菌属; *Microclunatus* 小月菌属; *Sphingomonas* 鞘脂单胞菌属; *Brevundimonas* 短波单胞菌属; *Micrococcus* 微球菌属; *Acinetobacter* 不动杆菌属; *Propionibacterium* 丙酸菌属; *Burkholderia* 伯克氏菌属; *Rhodococcus* 红球菌属; *Microbacterium* 微杆菌属; *Pedomicrobium* 土微菌属; *Hyphomicrobium* 生丝微菌属; *Afifella* 假红单胞杆菌属; *Geobacter* 地杆菌属; *Candidatus. Rhabdochlamydia* 棍衣原体属; *Nitrospira* 硝化螺菌属; *Candidatus. Nitrososphaera* 亚硝化螺菌属; *Opitutus* 丰佑菌属; *Couchioplanes* 科氏游动菌属; *Pilimelia* 发仙菌属; *Devosia* 德沃斯氏菌属; *Flavobacterium* 黄杆菌属; *Mycobacterium* 分枝杆菌属; *Planctomyces* 浮霉状菌属; *Steroidobacter* 类固醇杆菌属; *Pirellula* 小梨形菌属; *Lysobacter* 溶杆菌属; *Rubrivivax* 红长命菌属; *Gemmata* 出芽菌属; *Mesorhizobium* 中慢生根瘤菌属; *Phenylobacterium* 苯基杆菌属; *Rhizobium* 根瘤菌属; *Rhodoplanes* 红游动菌属

PQ:山杨白桦林 Poplar birch forest; PM:云杉林 Picea forest; WH:五花草甸 Multi-flower meadow; HR:沙棘灌木林 Hippophae shrub; PQL:山杨白桦落叶松林 Poplar birch and larix forest; PC:山杨林 Poplar forest; LP:落叶松云杉林 Larix and picea forest; SS:柳树灌木林 Salix shrub; 后加 A 表示 0—15 cm 土层; 后加 B 表示 15—30 cm 土层

2.4 不同植被类型土壤反硝化菌群落特征与土壤理化因子相关性

对不同植被类型土壤反硝化酶活性、菌群多样性及优势菌群与土壤理化性质相关性分析(表 4)表明:土壤有机碳(SOC)、速效磷(AP)和土壤含水量(SM)属于关键性土壤环境因子;土壤反硝化酶活性(DEA)与土

壤硝态氮呈显著正相关($r=0.29, P \leq 0.05$);土壤反硝化菌群多样性与铵态氮显著正相关($r=0.36, P \leq 0.05$),而与其理化因子相关性不强。同时,门水平上,土壤反硝化菌群组成与土壤 pH、土壤有机碳(SOC)和硝态氮呈显著相关;变形杆菌门(Proteobacteria)与硝态氮呈极显著正相关关系($r=0.46, P \leq 0.01$);厚壁菌门(Firmicutes)与土壤 pH 呈显著正相关($r=0.3, P \leq 0.05$),而与土壤有机碳(SOC)($r=-0.32, P \leq 0.05$)和硝态氮($r=-0.37, P \leq 0.01$)呈极显著负相关关系;放线菌门(Actinobacteria)与硝态氮呈极显著正相关($r=0.47, P \leq 0.01$);绿弯菌门(Chloroflexi)与土壤有机碳(SOC)呈极显著正相关($r=0.47, P \leq 0.01$)。

表 4 文峪河上游河岸土壤反硝化酶活性、菌群多样性及优势菌群与土壤理化性质相关系数

Table 4 Correlation coefficient among DEA, denitrifiers diversity, dominant taxa and soil properties of upper Wenyuhe watershed

项目 Item	pH _{water}	土壤理化性质 Soil physicochemical properties					
		有机碳 Soil organic carbon SOC /(g/kg)	速效磷 Available phosphorus AP /(mg/kg)	含水量 Soil moisture SM/%	全氮 Total nitrogen TN /(g/kg)	铵态氮 Ammonium nitrogen NH ₄ ⁺ -N /(mg/kg)	硝态氮 Nitrate nitrogen NO ₃ ⁻ -N /(mg/kg)
植被类型 Vegetation types	-0.05	0.39 **	0.29 *	0.37 **	0.28	0.22	0.02
土层 Soil layers	0.44 **	-0.67 **	-0.62 **	-0.73 **	-0.62 **	-0.80 **	-0.12
反硝化酶活性 Denitrifying enzyme activity	-0.08	0.01	0.07	-0.10	0.24	0.00	0.29 *
Chao1 指数 Chao1	-0.01	-0.02	-0.09	-0.08	-0.14	0.36 *	-0.15
香农指数 Shannon	0.14	0.05	-0.03	-0.07	-0.08	0.19	-0.23
变形杆菌门 Proteobacteria	-0.27	-0.05	0.07	-0.06	0.19	-0.02	0.46 **
厚壁菌门 Firmicutes	0.30 *	-0.32 *	-0.08	-0.20	-0.10	0.02	-0.37 **
放线菌门 Actinobacteria	-0.21	0.03	0.08	0.16	0.15	-0.13	0.47 **
绿弯菌门 Chloroflexi	-0.13	0.47 **	0.15	0.22	-0.03	0.16	-0.01
浮霉菌门 Planctomycetes	0.10	0.06	0.03	-0.03	-0.19	-0.20	0.22

*: 在 $P \leq 0.05$ 水平上差异显著, **: 在 $P \leq 0.01$ 水平上差异显著 (Tukey 检验法)

通过冗余分析可知(图 6):土层深度与土壤总有机碳(SOC)、有效磷(AP)、土壤含水量(SM)、土壤总氮(TN)、土壤铵态氮和硝态氮含量呈极显著负相关关系,而与土壤 pH 值呈显著正相关关系;不同植物植被类型之间的土壤总有机碳(TOC)、有效磷(AP)、土壤含水量(SM)等土壤理化因子有明显的差异。红长命菌属(*Rubrivivax*)、固氮螺菌属(*Azospira*)、硫针菌属(*Sulfuritalea*)、罗河杆菌属(*Rhodanobacter*)、艾德昂菌属(*Ideonella*)、草螺菌属(*Herbaspirillum*)和固氮弧菌属(*Azoarcus*)等属受土壤硝态氮含量的影响较为显著,且对土壤反硝化酶活性的贡献值较大;贪铜菌属(*Cupriavidus*)、副球菌属(*Paracoccus*)、磁螺菌属(*Magnetospirillum*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、固氮螺菌属(*Azospirillum*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、陶厄氏菌属(*Thauera*)和迪诺氏杆菌属(*Dinoroseobacter*)等属受土层深度和土壤 pH 土壤值影响较为明显,对土壤反硝化菌群多样性贡献值较大;*Pseudogulbenkiania* 属、博德特氏菌属(*Bordetella*)、多形菌属(*Polymorphum*)、劳尔氏菌属(*Ralstonia*)和 *Aromatoleum* 等属受植被类型差异影响较大。

3 讨论

目前,对文峪河上游河岸带植物群落类型及生态适应性^[15]、演替分析与预测^[4]以及群落环境梯度格局和演替过程^[22]等方面研究较为深入,而对不同植被类型及土层土壤微生物多样性及功能等研究甚少。本研究对文峪河上游河岸带不同植被类型及土层土壤反硝化菌群多样性及群落组成和土壤反硝化酶活性进行了研究。结果表明:文峪河上游河岸带植被类型土壤反硝化菌群多样性及群落组成和土壤反硝化酶活性,不仅受地表植被类型差异的影响,还受土壤土层间环境因子差异的影响,二者之间存在互作效应。

土壤微生物与植物根系之间存在相互依存关系,植物群落结构差异会引起土壤理化性质变化,进而对土壤微生物群落产生间接影响^[23,24]。本研究结果中土壤反硝化菌群多样性 Chao1 指数与土壤铵态氮呈显著正

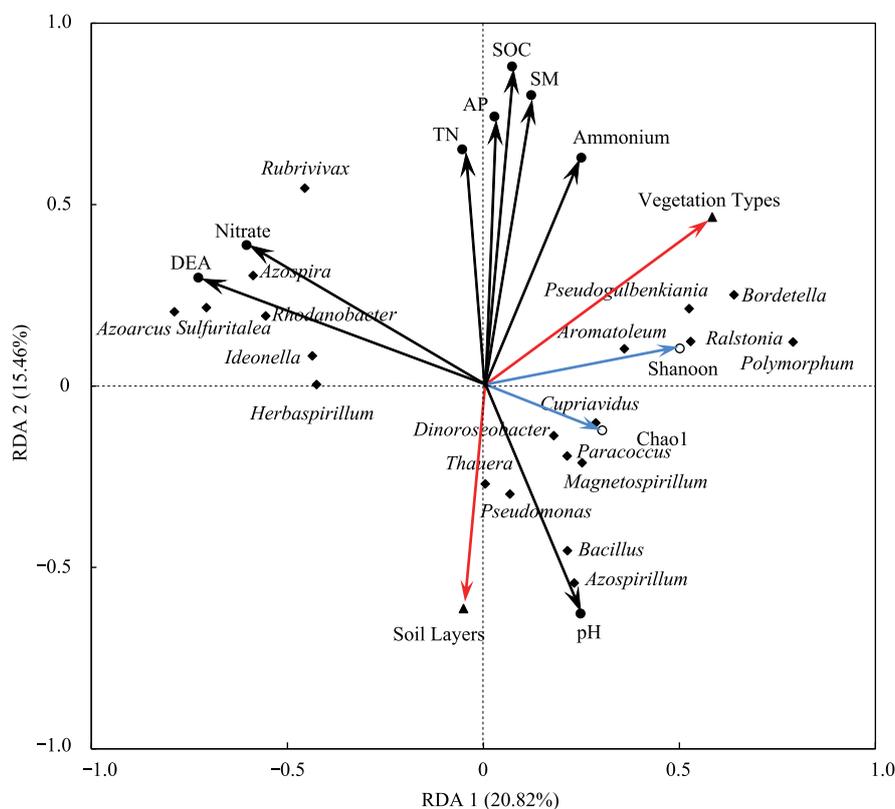


图 6 文峪河上游河岸不同植被类型和土层土壤理化性质、反硝化菌群多样性及优势菌属的冗余分析

Fig.6 RDA analysis of soil properties, denitrifiers diversity and dominant taxa at genus level in different vegetation types and soil layers of upper Wenyuhe watershed

实心圆代表土壤理化因子;空心圆代表反硝化菌多样性指数;三角形代表处理方式;菱形代表反硝化菌优势属;SOC:土壤有机碳 Soil organic carbon;SM:土壤含水量 Soil moisture;AP:速效磷 Available phosphorus;TN:总氮 Total nitrogen;DEA:土壤反硝化酶活性 Denitrifying enzyme activity;*Pseudomonas* 假单胞菌属;*Azospira* 固氮螺菌属;*Azospirillum* 固氮螺菌属;*Rubrivivax* 红长命菌属;*Rhodanobacter* 罗河杆菌属;*Azoarcus* 固氮弧菌属;*Sulfuritalea* 硫针菌属;*Polymorphum* 多形菌属;*Cupriavidus* 贪铜菌属;*Bacillus* 芽孢杆菌属;*Paracoccus* 副球菌属;*Magnetospirillum* 趋磁螺菌属;*Thauera* 陶厄氏菌属;*Dinoroseobacter* 迪诺氏杆菌属;*Herbaspirillum* 草螺菌属;*Ralstonia* 劳尔氏菌属;*Bordetella* 博德特氏菌属;*Ideonella* 艾德昂菌属

相关(表 4),这与孙翼飞等^[25]研究结果一致,表明土壤铵态氮是影响土壤反硝化菌群结构多样性的关键土壤环境因子,且土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 是土壤无机态氮的主要存在形式之一,可以被植物根系直接吸收和利用^[26]。不同植被类型间土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量差异性显著,山杨白桦混交林(PQ)土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量显著性高于其他植被类型(表 2);山杨白桦混交林(PQ)处于群落演替 III 阶段,属于演替中期阶段,其土壤反硝化菌群多样性最高,表明演替中期阶段的植物群落土壤微生物群落处于高度活跃期,对植物群落正向演替和土壤环境变化起着关键作用,这与岳琳艳等^[27]研究结论相一致。同时,本研究结果中所有植被类型 0—15 cm 土层土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量显著性高于 15—30 cm 土层,表明随着土层深度加深土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量显著降低,其土壤反硝化菌群多样性也降低,这与许翠清等^[28]研究结论一致。

土壤反硝化酶活性(DEA)是土壤反硝化细菌群落结构及功能的重要体现,主要受土壤通气状况、有机质含量及土壤 $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 浓度等因素影响^[29]。本研究结果表明土壤硝态氮在柳树灌木林(SS)和沙棘林(HR)土壤中含量较高,其土壤反硝化酶活性(DEA)也显著高于其他植被类型,且与土壤硝态氮呈显著正相关($P \leq 0.05$)。因此,在文峪河上游河岸带不同植被类型土壤中, $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 含量是影响土壤反硝化酶活性(DEA)关键土壤环境因子,不同植被类型土壤中 $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 含量差异导致土壤反硝化酶活性(DEA)差异;土壤全氮在土壤微生物

物矿化作用和硝化作用下,经铵态氮形式转化成硝态氮,成为影响土壤反硝化酶活性(DEA)另一重要因子^[30]。本实验结果中土壤全氮含量在柳树灌木林(SS)中明显高于其他植被类型,且土壤反硝化酶活性(DEA)与土壤全氮含量呈高度正相关($r=0.24$),土壤全氮含量和硝态氮含量在0—15 cm 土层显著高于15—30 cm 土层,即随着土层深度加深土壤全氮含量和硝态氮含量呈显著降低趋势,与陈刚亮等^[21]和薛晓辉^[31]研究结论相一致。

土壤中反硝化菌群数量及优势菌群会对土壤反硝化作用产生重要影响^[32],在反硝化作用中发挥重要功能的微生物多属于异养、兼性厌氧细菌,如变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)和放线菌门(Actinobacteria)等^[33]。本研究结果表明:在文峪河上游河岸带不同植被类型土壤中,共有5个反硝化菌优势种群,即变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)和浮霉菌门(Planctomycetes)。其中变形菌门(Proteobacteria)相对丰度最高,且在不同植被类型土壤中反硝化细菌群落组成大致相似,这与戴雅婷等^[34]和牛晓燕等^[35]研究结论相一致。另外,厚壁菌门(Firmicutes)属于五花草甸(WH)的优势菌群,放线菌门(Actinobacteria)属于沙棘灌木林(HR)和柳树灌木林(SSA)优势菌群,而浮霉菌门(Planctomycetes)仅在落叶松云杉混交林(LP)和云杉林(PM)土壤中被发现,表明处于不同演替阶段的植被类型土壤中存在各自独特的优势细菌类群^[36]。

对不同植被类型土壤理化性质和优势菌群相关性分析和冗余分析得出:在门水平上,土壤反硝化细菌群落组成及相对丰度与土壤pH、土壤有机碳(SOC)和硝态氮含量相关性显著,这说明这三个土壤理化性质影响影响土壤反硝化细菌优势类群相对丰度含量和群落组成。在属水平上,不同样本土壤反硝化细菌群落组成差异显著(表3),如在五花草甸(WH)土壤中芽孢杆菌属(*Bacillus*)和贪铜菌属(*Cupriavidus*)属于明显优势菌属,而在云杉林(PM)土壤中劳尔氏菌属(*Ralstonia*)、*Aromatoleum*属、贪铜菌属(*Cupriavidus*)属于明显优势菌属;同时,我们发现不同优势菌属在各样本中相对丰度差异显著,如假单胞菌属(*Pseudomonas*)在山杨白桦混交林(PQ)15—30 cm 土层中相对丰度明显高于其他植被类型土层。这一研究结果充分表明,文峪河上游河岸带不同植被类型土壤中反硝化细菌优势菌群结构及组成因植被类群的不同而呈现出明显差异,这与柳春林等^[37]研究结果相一致。

4 结论

结合植被类型演替分析得出,文峪河上游河岸带不同植被类型土壤反硝化细菌群落结构和功能具有显著差异。土壤反硝化细菌多样性指数变化大致呈“W”型,即在演替初期五花草甸(WH)、演替中期山杨白桦林(PQ)和演替顶级云杉林(PM)土壤中反硝化细菌多样性较高;而土壤反硝化酶活性变化大致呈倒“V”型,即演替前中期沙棘灌木林(HR)和柳树灌木林(SS)土壤中反硝化酶活性及反硝化功能最强;不同土层间土壤反硝化细菌群落结构和功能也存在显著差异,即0—15 cm 土层土壤反硝化细菌多样性和反硝化酶活性显著高于15—30 cm 土层。

文峪河上游河岸带植被类型土壤反硝化菌优势菌群主要隶属于变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)和浮霉菌门(Planctomycetes)。不同植被类型不同土层土壤中反硝化细菌群落结构及组成差异显著,如浮霉菌门(Planctomycetes)仅在落叶松云杉混交林(LP)和云杉林(PM)15—30 cm 土层中分布,有明显的特异性。表明植被类型和土层深度对土壤反硝化细菌群落结构及组成产生重要影响;而且土壤理化性质和优势菌群之间存在显著相关性,其中土壤pH、土壤有机碳、土壤铵态氮和硝态氮含量等环境因子是影响土壤反硝化细菌群落结构及组成的关键因子。

参考文献(References):

- [1] González E, Felipe-Lucia M R, Bourgeois B, Boz B, Nilsson C, Palmer G, Sher A A. Integrative conservation of riparian zones. *Biological Conservation*, 2017, 211: 20-29.
- [2] Gregory S V, Swanson F J, McKee W A, Cummins K W. An ecosystem perspective of riparian zones: focus on links between land and water.

- BioScience, 1991, 41(8): 540-551.
- [3] Clerici N, Paracchini M L, Maes J. Land-cover change dynamics and insights into ecosystem services in European stream riparian zones. *Ecohydrology & Hydrobiology*, 2014, 14(2): 107-120.
- [4] 高润梅, 郭晋平. 文峪河上游河岸林的演替分析与预测. *生态学报*, 2010, 30(6): 1564-1572.
- [5] Aguiar F C, Cerdeira J O, Martins M J, Ferreira M T. Riparian forests of Southwest Europe: are functional trait and species composition assemblages constrained by environment? *Journal of Vegetation Science*, 2013, 24(4): 628-638.
- [6] 孙东耀, 全川, 纪钦阳, 谭立山, 张玉珍, 卓桂华, 张健, 林啸. 不同类型植被河岸缓冲带对模拟径流及总磷的消减研究. *环境科学学报*, 2018, 38(6): 2393-2399.
- [7] 孔涛, 张德胜, 寇涌苹, 刘民, 何志明. 浑河上游典型植被河岸带土壤有机碳、全氮和全磷分布特征. *土壤*, 2014, 46(5): 793-798.
- [8] 杨丹, 樊大勇, 谢宗强, 张爱英, 熊高明, 赵常明, 徐文婷. 消落带生态系统氮素截留转化的主要机制及影响因素. *应用生态学报*, 2016, 27(3): 973-980.
- [9] Han L, Huang W, Yuan X Y, Zhao Y, Ma Z J, Qin J. Denitrification potential and influencing factors of the riparian zone soils in different watersheds, Taihu basin. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2017, 228(3): 108.
- [10] Groh T A, Davis M P, Isenhardt T M, Jaynes D B, Parkin T B. Denitrification potential in three saturated riparian buffers. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2019, 286: 106656.
- [11] Nan W G, Yue S C, Li S Q, Huang H Z, Shen Y F. Characteristics of N₂O production and transport within soil profiles subjected to different nitrogen application rates in China. *Science of the Total Environment*, 2016, 542: 864-875.
- [12] 叶莉莎, 陈双林, 郭子武. 覆盖措施对雷竹林地土壤硝化和反硝化作用的影响. *生态学杂志*, 2016, 35(4): 966-971.
- [13] 陈哲, 袁红朝, 吴金水, 魏文学. 长期施肥制度对稻田土壤反硝化细菌群落活性和结构的影响. *生态学报*, 2009, 29(11): 5923-5929.
- [14] 高润梅, 石晓东, 郭晋平. 山西庞泉沟国家自然保护区种子植物区系研究. *武汉植物学研究*, 2006, 24(5): 418-423.
- [15] 吉久昌, 郭跃东, 郭晋平, 张芸香. 文峪河上游河岸林群落类型及其生态适应性. *生态学报*, 2009, 29(3): 1587-1595.
- [16] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析. 上海: 上海科学技术出版社, 1978: 62-93.
- [17] 李西年. 土壤农业化学常规分析方法. 北京: 科学出版社, 1983: 86-88.
- [18] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999: 130-162.
- [19] Qin S P, Hu C S, Oenema O. Quantifying the underestimation of soil denitrification potential as determined by the acetylene inhibition method. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 47: 14-17.
- [20] Robertson G P, Coleman D C, Bledsoe C S, Collins P. *Standard Soil Methods for Long-Term Ecological Research*. Oxford: Oxford University Press, 1999.
- [21] 陈刚亮, 李建华, 杨长明. 崇明岛不同土地利用类型河岸带土壤反硝化酶活性特征. *应用生态学报*, 2013, 24(10): 2926-2932.
- [22] 郭跃东, 郭晋平, 张芸香, 吉久昌. 文峪河上游河岸林群落环境梯度格局和演替过程. *生态学报*, 2010, 30(15): 4046-4055.
- [23] 尚占环, 丁玲玲, 龙瑞军, 马玉寿. 江河源区退化高寒草地土壤微生物与地上植被及土壤环境的关系. *草业学报*, 2007, 16(1): 34-40.
- [24] Hooper D U, Bignell D E, Brown V K, Brussaard L, Dangerfield J M, Wall D H, Wardle D A, Coleman D C, Giller K E, Lavelle P, Wim H. Van Der Putten W H, De Ruiter P C, Rusek J, Silver W L, Tiedje J M, Wolters V. Interactions between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: patterns, mechanisms, and feedbacks. *BioScience*, 2000, 50(12): 1049-1061.
- [25] 孙翼飞, 沈菊培, 张翠景, 韩国栋, 红梅, 赵巴音那木拉, 贺纪正. 不同放牧强度下土壤氨氧化和反硝化微生物的变化特征. *生态学报*, 2018, 38(8): 2874-2883.
- [26] 王晓锋, 刘红, 张磊, 罗珍, 袁兴中, 岳俊生, 蔚建军. 澎溪河消落带典型植物群落根际土壤无机氮形态及氮转化酶活性. *中国环境科学*, 2015, 35(10): 3059-3068.
- [27] 岳琳艳, 郑俊强, 韩士杰, 杨建华, 耿世聪, 陈志杰, 张雪, 谷越. 长白山温带森林不同演替阶段土壤化学性质及微生物群落结构的变化. *生态学杂志*, 2015, 34(9): 2590-2597.
- [28] 许翠清, 陈立新, 颜永强, 纪莹. 温带森林土壤铵态氮、硝态氮季节动态特征. *东北林业大学学报*, 2008, 36(10): 19-21.
- [29] Webster A J, Groffman P M, Cadenasso M L. Controls on denitrification potential in nitrate-rich waterways and riparian zones of an irrigated agricultural setting. *Ecological Applications*, 2018, 28(4): 1055-1067.
- [30] Song Y Z, Li Y F, Cai Y J, Fu S L, Luo Y, Wang H L, Liang C F, Lin Z W, Hu S D, Li Y C, Chang S X. Biochar decreases soil N₂O emissions in Moso bamboo plantations through decreasing labile N concentrations, N-cycling enzyme activities and nitrification/denitrification rates. *Geoderma*, 2019, 348: 135-145.
- [31] 薛晓辉, 赵常万, 张嵩. 黔西北不同土地利用类型下土壤全氮及硝态氮的分布与残留. *草地学报*, 2016, 24(4): 819-824.
- [32] Song K, Lee S H, Kang H. Denitrification rates and community structure of denitrifying bacteria in newly constructed wetland. *European Journal of Soil Biology*, 2011, 47(1): 24-29.
- [33] 芦燕, 曾静, 赵吉, 王斌, 张少华, 希尼尼根, 于景丽. 典型草原区不同生境反硝化菌群的空间特征. *微生物学通报*, 2019, 46(4): 707-720.
- [34] 戴雅婷, 闫志坚, 解继红, 吴洪新, 徐林波, 侯向阳, 高丽, 崔艳伟. 基于高通量测序的两种植被恢复类型根际土壤细菌多样性研究. *土壤学报*, 2017, 54(3): 735-748.
- [35] 牛晓燕, 刘志强, 赵晶晶, 王雨晴, 程宇琪, 杜浩, 张成福. 大兴安岭森林火烧后不同演替阶段土壤细菌多样性动态. *微生物学通报*, 2017, 44(8): 1825-1833.
- [36] 张露琪, 张志明, 张丽梅, 王军涛. 典型农田退耕后土壤真菌与细菌群落的演替. *生态学报*, 2019, 39(8): 2715-2722.
- [37] 柳春林, 左伟英, 赵增阳, 邱礼鸿. 鼎湖山不同演替阶段森林土壤细菌多样性. *微生物学报*, 2012, 52(12): 1489-1496.