doi:10. 3969/j. issn. 1006-8023. 2024. 02. 004

白桦林地土壤细菌群落特征及其驱动作用

张胜男[1],唐凯[2],高海燕[1],魏一凡[1],张雷[1]*
(1. 内蒙古自治区林业科学研究院,呼和浩特 010010;2. 内蒙古农业大学 生命科学学院,呼和浩特 010018)

摘　要:为探究白桦林地上层土壤与下层土壤细菌群落结构差异及细菌对上、下层土壤功能的驱动作用,采用 16S rRNA 基因高通量测序和土壤养分测定方法,对苏木山 40 a 白桦林地 0~20 cm 和 20~40 cm 土层进行分析。结果表明,白桦林地上层土壤有机质含量和多酚氧化酶活性较下层土壤显著提高 75. 25%和 120. 45%;上层土壤细菌 Shannon 多样性指数(5. 83)较下层土壤 Shannon 多样性指数(5. 74)显著提高;放线菌门、变形菌门和酸杆菌门(相对丰度>15%)、黄杆菌科(相对丰度>7%)、慢生根瘤菌属、鞘氨醇单胞菌属、土微菌属以及放线菌门的分枝杆菌属、类诺卡氏属、土壤红杆菌属和 *Gaiella* 属(相对丰度>1%)是白桦林地的优势细菌类群;疣微菌门(线性判别分析 LDA 值为 4. 07)和拟杆菌门(LDA 值为 3. 80)以及放线菌门的类诺卡氏属(LDA 值为 3. 72)和土壤菌属(LDA 值为 3. 48)是白桦林地上层和下层土壤差异贡献度最大细菌门和属;多酚氧化酶活性、碱性蛋白酶活性和有机质含量是影响林地细菌群落结构的主要环境因子,并且显著影响放线菌门细菌类群。综上,白桦林地上层和下层土壤细菌多样性存在显著差异,放线菌门作为白桦林地重要的细菌类群,通过促进土壤碳循环的方式提高林地肥力水平,促进白桦林地土壤生态系统健康稳定发展。

关键词:白桦林;细菌群落;碳循环;土层;放线菌门
中图分类号:S714. 3　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1006-8023(2024)02-0027-09

Characteristics and Driving Effects of Soil Bacterial Communities in *Betula platyphylla* Forest

ZHANG Shengnan[1], TANG Kai[2], GAO Haiyan[1], WEI Yifan[1], ZHANG Lei[1]*
(1. Inner Mongolia Academy of Forestry, Hohhot 010010, China; 2. Life College of Sciences, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: In order to investigate the difference of bacterial community structure between upper soil and lower soil and the driving effect of bacteria on the function of soil, 16S rRNA gene high-throughput sequencing and soil nutrient determination methods were used to analyze the 0-20 cm and 20-40 cm soil layers of *Betula platyphylla* forest at 40 ages in Sumushan Mountain. The results showed that the content of organic matter and the activity of polyphenol oxidase in the upper soil of *Betula platyphylla* forest significantly increased by 75. 25% and 120. 45% compared with the lower soil. Shannon diversity (5. 83) of bacteria in upper soil was significantly higher than that in lower soil (5. 74). Actinobacteria, Proteobacteria and Acidobacteria (relative abundance>15%), Xanthobacteraceae (relative abundance>7%), *Bradyrhizobium*, *Sphingomonas*, *Pedomicrobium*, and *Mycobacterium*, *Nocardioides*, *Solirubrobacter* and *Gaiella* (relative abundance>1%) belonged to Actinobacteria were the dominant bacterial groups in *Betula platyphylla* forest. Verrucobacteria (Linear Discriminate Analysis, LDA 4. 07), Bacteroides (LDA 3. 80), and *Nocardioides* (LDA 3. 72) and *Oryzihumus* (LDA 3. 48) belonged to Actinobacteria were the main bacterial phylum and genus contributing to the difference between the upper and lower soil of *Betula platyphylla* forest. Polyphenol oxidase activity, alkaline protease activity and organic matter content were the main environmental factors affecting the bacterial community structure of *Betula platyphylla* forest, and significantly affected the Actinobacteria bacteria. In conclusion, there were significant differences in bacterial diversity between the upper and lower layers of soil in *Betula platyphylla* forest. Actinobacteria improved the fertility level of forest land as an important bacterial group by promoting soil carbon cycling in *Betula platyphylla* forest, and promoted the healthy and stable development of soil ecosystem in *Betula platyphylla* forest.

Keywords: *Betula platyphylla* forest; bacterial community; carbon cycle; soil layer; Actinobacteria

收稿日期:2023-07-26
基金项目:国家自然科学基金(31960284);内蒙古自治区科技计划项目(2019GG001)。
第一作者简介:张胜男,博士,副研究员。研究方向为应用与环境微生物。E-mail: nmzhangshengnan@ 163. com
*通信作者:张雷,博士,研究员。研究方向为恢复生态学。E-mail: lkyzhanglei@ 126. com
引文格式:张胜男, 唐凯, 高海燕, 等. 白桦林地土壤细菌群落特征及其驱动作用[J]. 森林工程, 2024,40(2):27-35.
ZHANG S N, TANG K, GAO H Y, et al. Characteristics and driving effects of soil bacterial communities in *Betula platyphylla* forest[J]. Forest Engineering, 2024, 40(2):27-35.

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

0 引言

白桦(*Betula platyphylla* Suk.)为我国常见桦木属落叶乔木,在我国北方广泛分布,在吉林、黑龙江和内蒙古自治区三省区的面积可达 274.97 hm^2[1]。白桦林多在阴坡生长,是分布广泛的生态和用材造林树种,占森林总面积和总蓄积量的 41.15% 和 41.59%[2],在森林生态系统土壤碳库中占有重要地位。目前关于白桦林碳循环相关研究主要集中于林木发育[3-6]、抚育方式[7]、凋落物[8-9]以及混交模式[10]等对土壤碳通量和碳储量的影响;此外还有白桦林地碳层划分[11]以及土壤微生物量碳氮的研究等[12]。

土壤微生物作为地球生物化学循环的重要驱动力,参与森林生态系统碳、氮、磷等营养物质的循环,对森林土壤结构和质量改善有重要促进作用,对维持林地土壤碳库平衡、促进林木生长和发育具有关键作用[13-14]。因此,白桦林地土壤分层,结合土壤微生物群落分布特征,能够明确白桦林地上下层土壤养分和微生物之间的联动作用,从土壤微生物角度阐释其对白桦林地碳循环的驱动作用。

本研究通过采集 40 a 林龄白桦林地土壤样品,并对土壤养分进行测定,利用高通量测序和生物信息学方法对白桦林地上下层土壤细菌群落结构和多样性进行分析,挖掘林地上下层土壤细菌群落的差异;结合土壤肥力水平,探讨白桦林地土壤肥力与细菌群落之间的关系,为深入研究微生物驱动的退化林地土壤生态系统恢复以及森林生态系统碳汇机制提供理论依据。

1 研究区概况与研究方法

1.1 研究区域概况

苏木山林场(113.67°~114.08°E,40.50°~40.67°N)位于内蒙古自治区兴和县,阴山山脉东端;东西横跨超 40 km,南北长度约 15 km,该区域海拔约为 1 500~2 300 m,年均气温为 4.2 ℃,年均降水量为 397 mm,无霜期 110 d,属半干旱大陆性季风气候。土壤基带是栗钙土,土层厚度小于 120 cm。研究区林下灌木主要有绣线菊(*Spiraea salicifolia* L.)、胡枝子(*Lespedeza bicolor* Turcz.)和山刺玫(*Rosa davurica* Pall.)等,草本植物主要有豆科、菊科和禾本科等。

1.2 研究方法

1.2.1 样地选择和取样

选择立地条件相近、坡度接近(22°~32°)、生长状态良好且树龄为 40 a 左右、植株密度为 933 株/hm^2、平均胸径为 16.8 cm、平均树高约 11 m 的白桦林天然林样地。样地内按“S”形设置 9 个采样点,利用土钻取 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤样品,各土层每 3 个样品按等质量比混匀为 1 个样品,置于 4 ℃车载冰箱运至试验室,用于后续土壤养分检测及土壤细菌 DNA 的提取和测序。

1.2.2 土壤养分测定

采用酸度计进行土壤 pH 的测定(按质量比:去离子水∶土=4.5∶0.5);采用重铬酸钾外加热法测定土壤有机质含量;采用碱解扩散法测定土壤速效氮含量;采用钼锑抗比色法测定土壤速效磷含量[15-16]。土壤多酚氧化酶活性、过氧化物酶活性、碱性蛋白酶活性、碱性磷酸酶活性和纤维素酶活性使用北京索莱宝科技有限公司相应土壤酶活性检测剂盒进行测定。

1.2.3 土壤细菌总 DNA 的提取

将土壤样品混合均匀,分别取 0.5 g,按照土壤细菌 DNA 提取试剂盒(Soil DNA Kit,D5625-01)操作说明提取 DNA,每个土壤样品 DNA 提取 3 次高质量重复,并混合均匀,置于-80 ℃保存备用,用于后续测序分析。

1.2.4 高通量测序与生物信息学分析

利用引物 338F:5′-ACT CCT ACG GGA GGC AGC A-3′和 806R:5′-GGA CTA CHV GGG TWT CTA AT-3′[17],以各样品总 DNA 为模板扩增 16S rRNA 基因的 V3—V4 区。PCR 反应体系(20 μL):5×Fast Pfu Buffer 4 μL,dNTPs(2.5 mmol/L)2 μL,正、反向引物(5 μmol/L)各 8 μL,Fast Pfu Polymerase 0.4 μL,DNA 模板 10 ng。PCR 反应条件:95 ℃ 5 min;95 ℃ 30 s,55 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,是 35 个循环;然后再 72 ℃延伸 10 min。以 1%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,产物检测合格后,委托上海美吉生物医药科技有限公司采用 Illumina MiSeq 测序平台对扩增产物进行测序。

按照美吉生物生信云平台(https://cloud.majorbio.com/)中的标准流程进行数据处理,首先以 FLASH 软件对所得序列进行双端序列拼接;利用 Uparse 和 Usearch 进行操作分类单元(Operational

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Taxonomic Units,OTU)聚类和统计(cutoff=0.03);以 Mothur 软件计算 α-多样性指数;RDP Classifier 软件进行序列分类注释(物种分类数据库参照 silva138/16s_bacteria,分类置信度为 0.7);采用主坐标分析(Principal co-ordinates analysis,PCoA)白桦林地土壤细菌群落组成的差异性;采用热图(Heatmap)分析白桦林地土壤肥力水平对细菌群落结构的影响;采用线性判断分析法(Linear discriminant analysis,LEfSe)分析白桦林地土壤上层和下层分组中具有显著差异的细菌类群。

1.2.5　图形绘制及数据分析

统计分析采用 SPSS v17.0 软件,显著性水平为 $P<0.05$ 和 $P<0.01$。GraphPad Prism 7.0 和 Adobe Illustrator 2020 用于组图的绘制。

2　结果与分析

2.1　白桦林地土壤养分特征

由表 1 可知,白桦林地上层土壤(0~20 cm)有机质含量和多酚氧化酶活性较下层土壤(20~40 cm)显著提高($P<0.05$)。上层土壤有机质含量较下层土壤提高了 75.25%;多酚氧化酶活性在林地上层土壤含量高达 56.48 mg/(d·g),较其下层土壤提高了 120.45%。白桦林地上层土壤速效氮、速效磷含量、过氧化物酶活性、碱性蛋白酶活性和碱性磷酸酶活性均稍高于下层土壤,但未达到显著水平;上层土壤 pH 偏碱(pH=7.66),下层土壤则趋于中性(pH=7.23);纤维素酶活性则是下层土壤稍高于上层土壤。

表 1　土壤养分特征

Tab. 1 Characteristics of soil nutrients

土层/cm Soil layer	pH	有机质/(g·kg^{-1}) Soil organic matter	速效氮/(mg·kg^{-1}) Available nitrogen	速效磷/(mg·kg^{-1}) Available phosphorus	多酚氧化酶活性/(mg·d^{-1}·g^{-1}) Polyphenol oxidase activity	过氧化物酶活性/(U·g^{-1}) Peroxidase activity	碱性蛋白酶活性/(U·g^{-1}) Alkaline protease activity	碱性磷酸酶活性/(nmol·d^{-1}·g^{-1}) Alkaline phosphatase activity	纤维素酶活性/(U·g^{-1}) Cellulase activity
0~20	7.66± 0.32 a	7.15± 1.49 a	9.58± 1.61 a	17.88± 1.54 a	56.48± 4.01 a	3 641.93± 293.21 a	1.27± 0.25 a	30 746.44± 1 370.23 a	31.86± 0.62 a
20~40	7.23± 0.10 a	4.08± 0.68 b	9.16± 0.19 a	15.58± 0.94 a	25.62± 5.13 b	3 597.51± 323.98 a	0.94± 0.21 a	30 395.22± 1 296.43 a	32.29± 0.41 a

注:表中不同小写字母表示差异性显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters mean significant correlation ($P<0.05$).

2.2　白桦林地土壤细菌群落多样性、丰富度及结构差异

通过对样品高通量测序数据统计,白桦林地上层土壤(3 个重复 BHs1、BHs2、BHs3)和下层土壤(3 个重复 BHx1、BHx2、BHx3)分别得到 43 273、50 711、49 163、62 351、48 941 和 57 745 条 16S rRNA 基因序列,测序覆盖率均达到 99.9%以上;基于 OTU 的 Shannon 指数(图 1(a))和 Chao1 指数(图 1(b))稀释性曲线分别趋近于 5.55~5.70 和 860~880,表明测序结果能很好地反映各样品中细菌群落结构和多样性的真实性。

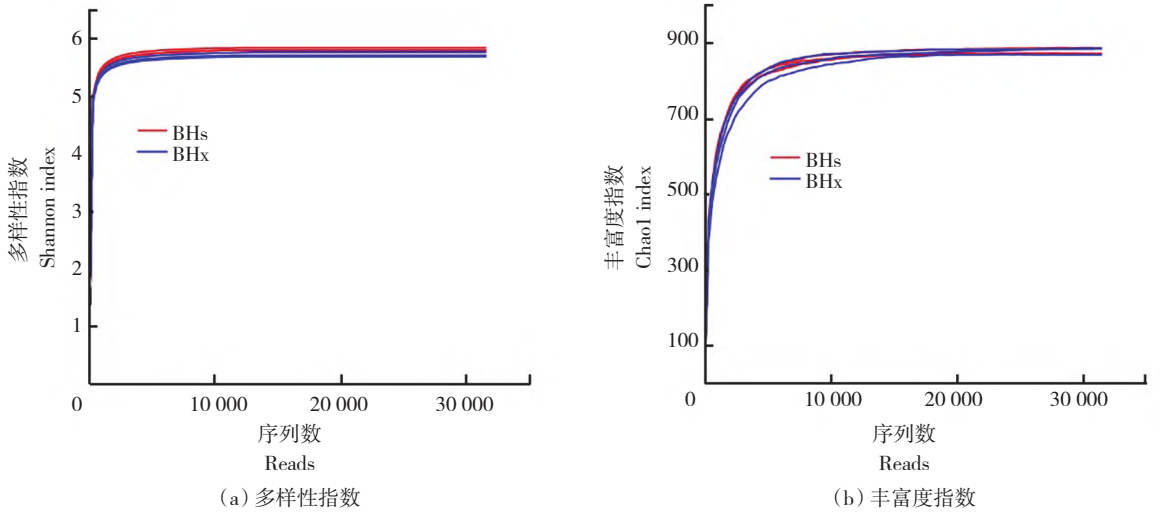
由图 2 可知,白桦林上层土壤 Shannon 多样性指数为 5.81~5.86(均值为 5.83),下层土壤 Shannon 多样性指数显著低于上层土壤,为 5.71~5.78(均值为 5.74)。白桦林地土壤细菌群落丰富度 Chao1 指数则不存在显著性差异,其中上层土壤 Chao1 指数为 871~886,下层土壤则为 867~884。

主坐标分析(Principal co-ordinates analysis,PCoA)用来分析白桦林地上层和下层土壤细菌群落组成的差异性。由图 3 可知,第一主坐标轴可以解释 48.18%的变异,是白桦林上层和下层土壤细菌群落的主要差异,第二主坐标轴可以解释 23.03%的变异,累计达到 71.21%的变异。样品分组间的差异远大于组内差异,说明白桦林地土壤细菌群落结构受土壤深度影响显著($R=0.70$,$P=0.041$)。

2.3　白桦林地土壤细菌群落结构和组成

白桦林地土壤细菌群落结构和组成如图 4 所示。放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)和拟杆菌门(Bacteroidetes)是白桦林上层土壤中的优势门,其相对丰度分别达到 31.82%、29.94%、15.89%、9.12%和 2.90%;放线菌门、变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门和疣微菌门(Verrucomicrobia)是白桦林下层土壤中的优势门,其相对丰度分

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net



(a) 多样性指数 (a) Shannon index　　(b) 丰富度指数 (b) Chao1 index

BHs 为白桦林地上层土壤(0~20 cm);BHx 为白桦林下层土壤(20 ~40 cm)。下同。

BHs represents the upper soil of *Betula platyphylla* forest (0-20 cm); BHx represents the lower soil of *Betula platyphylla* forest (20-40 cm). The same below.

图 1　基于 OTU 水平的 Shannon 和 Chao1 指数稀释曲线

Fig. 1 Dilution curves of Shannon index and Chao1 index at OTU level

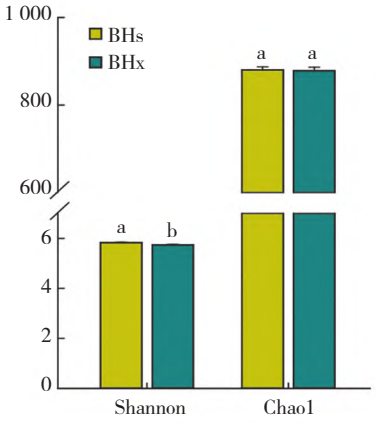


图 2　白桦林地土壤细菌群落多样性和丰富度

Fig. 2 Diversity and richness of soil bacterial community in *Betula platyphylla* forest

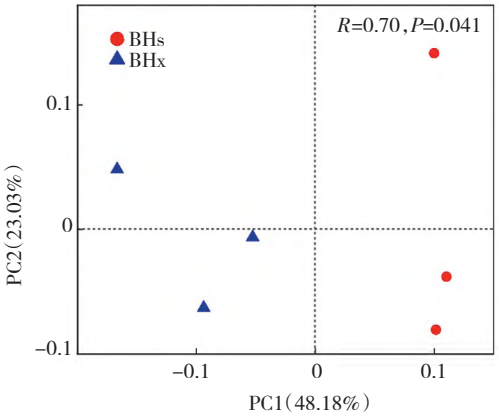


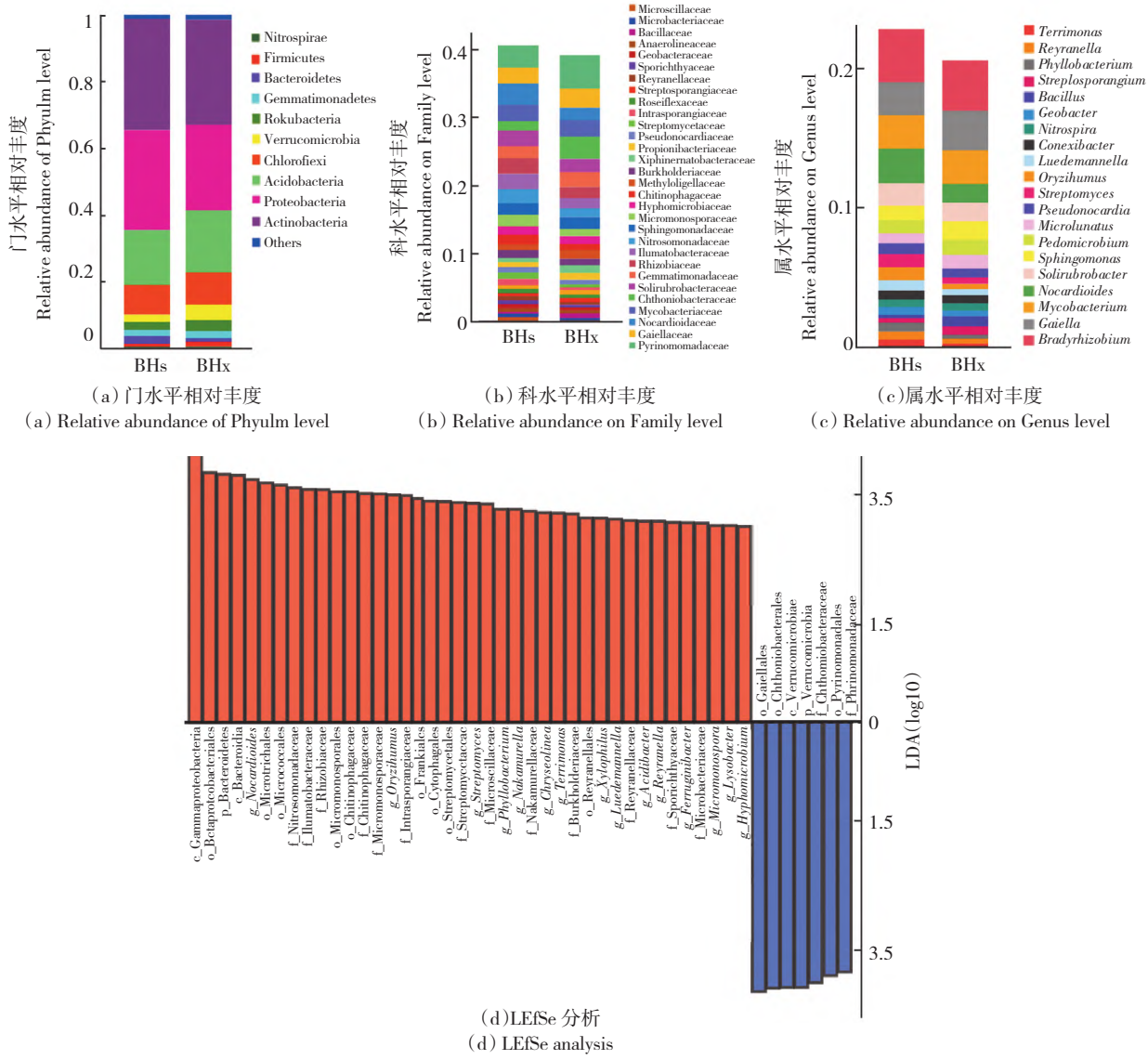
图 3　基于 OTU 水平的细菌群落结构差异分析

Fig. 3 Difference analysis of bacterial community structure at OTU level

别达到 30.37%、25.64%、18.20%, 9.71% 和 4.51%,如图 4(a)所示。放线菌门、变形菌门和酸杆菌门 3 个门的相对丰度均超过 15%,是白桦林地的优势门类;其中,放线菌门和变形菌门的相对丰度在林地上层土壤中略高,酸杆菌门相对丰度则在下层土壤中较高。此外,上层土壤中疣微菌门、Rokubacteria 和芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)的相对丰度均超过 1%,厚壁菌门(Firmicutes)、浮霉菌门(Planctomycetes)、髌骨细菌门(Patescibacteria)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae)等相对丰度较低;下层土壤中则是棒状杆菌门、芽单胞菌门、厚壁菌门和拟杆菌门 4 个门的相对丰度高于 1%。综上,白桦林地上层和下层土壤中群落门水平组成基本一致,仅存在相对丰度的微小差异。

除未分类的科外,黄杆菌科(Xanthobacteraceae)在白桦林地上层和下层土壤中的相对丰度均最高,可分别达到 7.23%和 7.63%,如图 4(b)所示;上层土壤中梭菌科(Pyrinomonadaceae)、分枝杆菌科(Mycobacteriaceae)、Gaiellaceae、红杆菌科(Solirubrobacteraceae)、芽单胞菌科(Gemmatimonadaceae)和西索恩氏菌科

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



（a）门水平相对丰度
（a）Relative abundance of Phyulm level

（b）科水平相对丰度
（b）Relative abundance on Family level

（c）属水平相对丰度
（c）Relative abundance on Genus level

（d）LEfSe 分析
（d）LEfSe analysis

图 4　不同土层细菌群落结构门、科、属水平组成及 LEfSe 分析

Fig. 4 Composition and LEfSe analysis of bacterial community structure at phylum level, family level and genus level in different soil layers

（Chthoniobacteraceae）6 个科的相对丰度在 2.01%～4.33%；下层土壤中梭菌科、分枝杆菌科、Gaiellaceae、类诺卡氏菌科（Nocardioidaceae）、芽单胞菌科和西索恩氏菌科 6 个科的相对丰度在 2.01%～3.38%。小单孢菌科（Micromonosporaceae）、Ilumatobacteraceae、类诺卡氏菌科、噬几丁质科（Chitinophagaceae）、生丝微菌科（Hyphomicrobiaceae）、Methyloligellaceae、根瘤菌科（Rhizobiaceae）、鞘脂单胞菌科（Sphingomonadaceae）、伯克氏科（Burkholderiaceae）和亚硝化单胞菌科（Nitrosomonadaceae）10 个科在林地上层土壤中相对丰度在 1.03%～1.92%；小单孢菌科、Ilumatobacteraceae、红杆菌科、噬几丁质科、生丝微菌科、根瘤菌科、鞘脂单胞菌科、伯克氏科和亚硝化单胞菌科 9 个科在林地下层土壤中相对丰度在 1.04%～1.99%。综上，除未分类的科外，白桦林地上层土壤中有 16 个科的相对丰度高于 1%，而下层土壤中则有 15 个，且在两层土壤共有 15 个科，上层土壤中仅独有 Methyloligellaceae 1 科。

除未分类的属外，慢生根瘤菌属（*Bradyrhizobium*）、*Gaiella*、分枝杆菌属（*Mycobacterium*）、类诺卡氏属（*Nocardioides*）、土壤红杆菌属（*Solirubrobacter*）、鞘氨醇单胞菌属（*Sphingomonas*）和土微菌属（*Pedomicrobium*）7 个属在白桦林地上层土壤中的相对丰度大于 1%；慢生根瘤菌属、*Gaiella*、分枝杆菌

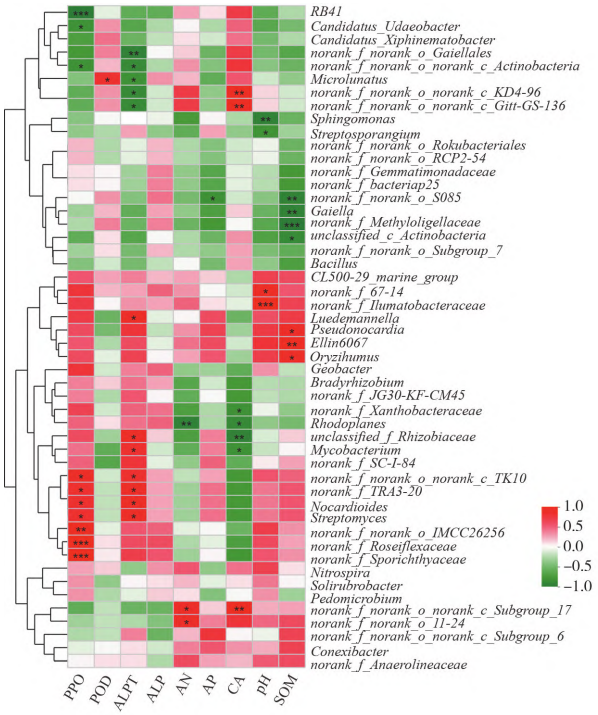
(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

属、类诺卡氏属、土壤红杆菌属、鞘氨醇单胞菌属、土微菌属和小月菌属(*Microlunatus*)8 个属在白桦林地下层土壤中的相对丰度大于 1%,如图 4(c)所示。在属水平,相对丰度超过 1%的属仅有小月菌属不同,其他属均相同,仅存在相对丰度的差异。

采用 LEfSE 分析白桦林上层、下层土壤中细菌群落结构的差异性,如图 4(d)所示,图 4(d)中显示 2 个分组中细菌群落经 LEfSE 分析得到的线性判别分析 LDA(Linear Discriminate Analysis)得分值,LDA 值越大说明该分类单元在 2 个分组中的差异越大,该分类单元对组间差异性贡献越大(本研究中选择 LDA 值至少大于 3.0)。除未分类的单元外,白桦林上层土壤中的差异物种在门水平为 1 个门拟杆菌门;2 个纲 γ-变形菌纲(Gammaproteobacteria)和拟杆菌纲(Bacteroidia);13 个科亚硝化单胞菌科、Ilumatobacteraceae、根瘤菌科、噬几丁质科、小单孢菌科、尖孢囊菌科(Intrasporangiaceae)、链霉菌科(Streptomycetaceae)、Microscillaceae、中村氏菌科(Nakamurellaceae)、伯克氏科、Reyranellaceae、鱼孢菌科(Sporichthyaceae)和微杆菌科(Microbacteriaceae);15 个属类诺卡氏属、土壤菌属(*Oryzihumus*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、叶杆菌属(*Phyllobacterium*)、中村氏属(*Nakamurella*)、*Chryseolinea*、土生单胞菌属(*Terrimonas*)、*Xylophilus*、*Luedemannella*、*Acidibacter*、*Reyranella*、*Ferruginibacter*、小单胞菌属(*Micromonospora*)、溶杆菌属(*Lysobacter*)和生丝微菌属(*Hyphomicrobium*)。白桦林地下层土壤中的差异物种则分别为疣微菌门、疣微菌纲(Verrucomicrobiae)、梭菌科和西索恩氏菌科。疣微菌门和拟杆菌门 2 个门在门水平对白桦林地上层和下层土壤差异贡献度最大,LDA 值分别为 4.07 和 3.80;γ-变形菌纲、疣微菌纲和拟杆菌纲为差异贡献度最大的 3 个纲,LDA 值分别为 4.10、4.07 和 3.78;西索恩氏菌科、梭菌科、亚硝化单胞菌科、Ilumatobacteraceae、根瘤菌科、噬几丁质科和小单孢菌科为差异贡献度最大的 7 个科,LDA 值均大于 3.50;类诺卡氏属和土壤菌属为差异贡献度最大的 2 个属,LDA 值分别为 3.72 和 3.48。综上所述,白桦林地上层土壤中的标志细菌类群分别为:拟杆菌门;γ-变形菌纲和拟杆菌纲;亚硝化单胞菌科、Ilumatobacteraceae、根瘤菌科、噬几丁质科和小单孢菌科;类诺卡氏属和土壤菌属。下层土壤中的标志细菌类群分别为疣微菌门、疣微菌纲、西索恩氏菌科和梭菌科。

2.4 白桦林地土壤细菌群落结构与环境因子相关性

由图 5 可知,属水平相对丰度 TOP50 的属与土壤环境因子进行相关性分析。结果表明,放线菌门的类诺卡氏属、*g_norank_f_norank_o_IMCC26256*、*g_norank_f_Sporichthyaceae* 和链霉菌属与多酚氧化酶活性(polyphenoloxidase,PPO)呈显著正相关,类诺卡氏属和链霉菌属 2 个属的相关性较高,均为 $R=0.83$ 和 $P=0.04$;疣微菌门的 *g_Candidatus_Udaeobacter* 和 *g_Candidatus_Xiphinematobacter* 2 个未分类的属与土壤中 PPO 含量则呈负相关。过氧化物酶活性(Peroxidase,POD)仅与放线菌门中的小月菌属呈显著正相关。



PPO 为多酚氧化酶活性;POD 为过氧化物酶活性;ALPT 为碱性蛋白酶活性;ALP 为碱性磷酸酶活性;AN 为速效氮含量;AP 为速效磷含量;CA 为纤维素酶活性;SOM 为有机质含量。

PPO means polyphenol oxidase activity; POD means peroxidase activity; ALPT means alkaline protease activity; ALP means alkaline phosphatase activity; AN means available nitrogen; AP means available phosphorus; CA means cellulase activity; SOM means soil organic matter.

图 5 细菌群落结构与土壤养分之间的相关性分析

Fig. 5 Correlation analysis between bacterial community structure and soil nutrients

放线菌门中的 *Luedemannella*、分枝杆菌属、类诺卡氏属和链霉菌属 4 个属与碱性蛋白酶活性(alkaline proteinase,ALPT)呈显著正相关,其相关性 R

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

可分别达到 0.89、0.83、0.89 和 0.89($P<0.05$);而小月菌属则与 ALPT 呈显著负相关($R=-0.83$, $P<0.05$)。变形菌门中的红游动菌属(*Rhodoplanes*)不仅与土壤中速效氮(available nitrogen,AN)含量呈极显著负相关($R=-0.94$,$P<0.01$),还与纤维素酶活性(cellulase activity,CA)呈显著负相关($R=-0.89$, $P<0.05$)。放线菌门的分枝杆菌属也与 CA 呈显著负相关($R=-0.83$,$P<0.05$)。变形菌门中的鞘氨醇单胞菌属与 pH 呈极显著负相关($R=-0.96$, $P<0.01$)。放线菌门与有机质含量(soil organic matter content,SOM)呈正相关性,变形菌门则对 SOM 具有两面性。假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)($R=0.89$, $P<0.05$)和土壤菌属($R=0.89$,$P<0.05$)与 SOM 呈显著正相关,*Gaiella*($R=-0.94$,$P<0.01$)则与 SOM 呈极显著负相关。

3　讨论

3.1　白桦林地上层和下层土壤细菌群落结构差异大

本研究中,白桦林地上层(0~20 cm)土壤 Shannon 多样性显著高于下层(20~40 cm),这可能与上层土壤中含氧量较高,表层枯落物多、营养丰富有关[18];这也是导致上层土壤中的标志细菌类群相对于下层土壤更多的原因。群落结构方面,放线菌门、变形菌门和酸杆菌门是优势门,该结果与多数林地土壤细菌群落结构研究结果类似,例如杉木林和马尾松林地土壤酸杆菌门含量达到 32.68%~49.17%[19],春夏两季北京香山古油松[20]和不同林龄杉木林土壤细菌优势门类[21]均为放线菌门、变形菌门和酸杆菌门。在科水平,黄杆菌科是白桦林地上层和下层土壤中的优势科(约 7%),这与油松-杉木混交林土壤中 Blastocatellaceae 是优势科,且相对丰度高达 8%以上显著不同[21],优势科及其相对丰度的差异可能与表层不同树种枯落物类型和根系分泌物的差异有关。属水平上,慢生根瘤菌属、类诺卡氏属、分枝杆菌属是 3 个优势属,其中慢生根瘤菌属、类诺卡氏属是重要的固氮菌群,同样兼具解磷作用,具有重要的促生潜力[22],类诺卡氏属也是白桦林上层土壤中重要的标志属,可利用包括多环芳烃等复杂的有机物,在碳、氮循环中扮演重要角色[23]。此外,土壤菌属也是白桦林上层土壤中重要的标志属,且与土壤有机质含量呈显著正相关,说明白桦林地土壤中富含参与碳、氮循环的细菌类群,尤其是上层土壤中居多,代谢活力更强。

3.2　白桦林地土壤细菌驱动森林生态系统碳循环

土壤酶是土壤生态系统物质和能量循环的重要驱动力,主要来源于土壤微生物和动植物的分泌及其残体的分解,其质量和活性可表征土壤肥力高低及循环速率快慢[24]。多酚氧化酶能够催化土壤中芳香族化合物氧化成醌[25],醌类物质与土壤中蛋白质、氨基酸、糖类和矿物质等物质反应生成有机质,多酚氧化酶在土壤有机质的降解和循环中发挥着重要的作用。本研究中,白桦林地上层土壤多酚氧化酶活性和有机质含量显著高于下层土壤,表明白桦林地上层土壤碳循环速率显著高于其下层土壤。在本研究中,白桦林地土壤多酚氧化酶活性和有机质含量与放线菌门细菌类群有重要关系,类诺卡氏属和链霉菌属与多酚氧化酶活性呈显著正相关,假诺卡氏菌属和土壤菌属与有机质含量呈显著正相关,说明放线菌门的类诺卡氏属、链霉菌属、假诺卡氏菌属和土壤菌属参与了林地土壤有机质生成和积累的过程。有研究报道,放线菌门成员具有较高比例的碳水化合物降解酶,促进土壤有机碳的矿化,在植物残体分解中发挥着关键的生态生理作用[26-27];放线菌门其他成员还可将难降解的纤维素和甲壳素等有机物分解[28],加速林木-土壤间营养物质的交换。此外,放线菌门的类诺卡氏属和土壤菌属还是白桦林地上层土壤中的标志属,假诺卡氏菌属可促进多种烷烃类碳源的分解代谢[29],这可能是该属在白桦林地上层作为标志细菌促进土壤碳循环的重要原因。此外,白桦林地还富含放线菌门的链霉菌属等具有碳水化合物降解以及碳源周转能力的细菌类群,说明白桦林地放线菌门细菌不仅对土壤有机碳降解过程具有重要意义,还对土壤多酚氧化酶以及有机质的积累具有重要作用。

森林土壤微生物是森林碳循环中的关键调节因子,在枯落物分解[30]、碳固存[31]和释放有机物质供植物吸收利用[32]等方面扮演重要角色。本研究中,放线菌门细菌成员不仅积极参与白桦林地土壤碳循环因子(多酚氧化酶和有机质)的积累,部分成员还成为林地上层土壤中的标志细菌,在林地上层土壤中加速枯落物分解,促进森林生态系统土壤碳回归和碳循环速率,进而提高林地肥力水平和养分循环状况,促进白桦林地土壤生态系统健康稳定发展。

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

4 结论

白桦林地上、下层土壤细菌群落多样性和组成存在显著差异,且主要体现在多样性上。白桦林地放线菌门作为林地土壤环境健康稳定的重要驱动者,通过提高林地土壤肥力水平以及分解碳水化合物的方式,在森林生态系统土壤碳循环中发挥重要作用。

【参 考 文 献】

[1] 丁壮,陈立新. 天然次生白桦林和蒙古栎林土壤碳密度分析[J]. 森林工程,2018,34(4):7-14.
DING Z, CHEN L X. Analysis of soil carbon density in natural secondary *Betula* and *Quercus mongolica* forests [J]. Forest Engineering, 2018, 34(4): 7-14.

[2] ZHOU Y, HARTEMINK A E, SHI Z, et al. Land use and climate change effects on soil organic carbon in North and Northeast China[J]. Science of the Total Environment, 2019, 647: 1230-1238.

[3] 韩营营,黄唯,孙涛,等. 不同林龄白桦天然次生林土壤碳通量和有机碳储量[J]. 生态学报,2015,35(5):1460-1469.
HAN Y Y, HUANG W, SUN T, et al. Soil organic carbon stocks and fluxes in different age stands of secondary *Betula platyphylla* in Xiaoxing´an Mountain, China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(5): 1460-1469.

[4] 孙涛. 小兴安岭不同年龄序列白桦天然次生林的土壤碳通量和碳贮量[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2011.
SUN T. Soil carbon flux and storage were measured across a chronosequence of secondary forests dominated by *Betula platyphylla* in Xiaoxing´an Mountain, China[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2011.

[5] 魏红,满秀玲. 中国寒温带不同林龄白桦林碳储量及分配特征[J]. 植物生态学报,2019,43(10):843-852.
WEI H, MAN X L. Carbon storage and its allocation in *Betula platyphylla* forests of different ages in cold temperate zone of China[J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2019, 43(10): 843-852.

[6] 张雪,韩士杰,王树起,等. 长白山白桦林不同演替阶段土壤有机碳组分的变化[J]. 生态学杂志,2016,35(2):282-289.
ZHANG X, HAN S J, WANG S Q, et al. Change of soil organic carbon fractions at different successional stages of *Betula platyphylla* forest in Changbai Mountains[J]. Chinese Journal of Ecology, 2016, 35(2): 282-289.

[7] 孟永斌. 抚育间伐强度对大兴安岭落叶松白桦天然次生林碳储量影响的研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2022.
MENG Y B. Effect of tending and thinning intensity on carbon storage of *Larix gmelinii* and *Betula platyphylla* natural secondary forest in Daxing´anling[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2022.

[8] 丁壮,尚杰. 天然次生白桦林蒙古栎林凋落物碳密度的差异[J]. 东北林业大学学报,2015,43(12):25-28.
DING Z, SHANG J. Difference of litter carbon density in natural secondary birches-mongolian oak forest[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2015, 43(12): 25-28.

[9] 张莹,董希斌,刘慧,等. 应用可见光和近红外图像对白桦凋落叶碳质量分数的估测模型[J]. 东北林业大学学报,2023,51(6):108-114.
ZHANG Y, DONG X B, LIU H, et al. Estimation model of carbon content of birch leaf litter using visible/near-infrared images[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2023, 51(6): 108-114.

[10] 刘丽颖,马燕,张绍轩,等. 典型针阔混交林白桦生物量和碳储量研究[J]. 林业资源管理,2014(3):82-86.
LIU L Y, MA Y, ZHANG S X, et al. Study on biomass and carbon storage of *Betula platyphylla* in typical mixed coniferous and broadleaf forest[J]. Forest Resources Management, 2014(3): 82-86.

[11] 马珍玉,王树森,王春霞,等. 大兴安岭天然兴安落叶松白桦林碳层划分的研究[J]. 中南林业科技大学学报,2017,37(9):112-117.
MA Z Y, WANG S S, WANG C X, et al. Research on carbon sequestration stratification of natural *Larix gmelinii* and *Betula platyphylla* forest in Daxing´an Mountain[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2017, 37(9): 112-117.

[12] 王云霞,马军. 不同林龄华北落叶松白桦混交林土壤微生物量碳氮含量研究[J]. 林业资源管理,2018(4):55-60.
WANG Y X, MA J. Research on soil microbial biomass carbon and nitrogen in larch-*Betula platylla* mixed forests of different ages[J]. Forest Resources Management, 2018(4): 55-60.

[13] 朱永官,沈仁芳,贺纪正,等. 中国土壤微生物组:进展与展望[J]. 中国科学院院刊,2017,32(6):554-565,542.
ZHU Y G, SHEN R F, HE J Z, et al. China soil microbiome initiative: progress and perspective[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2017, 32(6): 554-565, 542.

[14] TECON R, OR D. Biophysical processes supporting the diversity of microbial life in soil[J]. FEMS Microbiology

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Reviews, 2017, 41(5): 599-623.

[15] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,2000.
BAO S D. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000.

[16] 章家恩. 生态学常用实验研究方法与技术[M]. 北京:化学工业出版社,2007.
ZHANG J E. Common experimental research methods and techniques of ecology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.

[17] CHEN C, ZHANG J N, LU M, et al. Microbial communities of an arable soil treated for 8 years with organic and inorganic fertilizers[J]. Biology and Fertility of Soils, 2016, 52(4): 455-467.

[18] 丁爽,魏圣钊,陈真亮,等. 中国西南典型森林土壤微生物在不同土壤深度下的变化特征[J]. 应用生态学报,2023,34(3):614-622.
DING S, WEI S Z, CHEN Z L, et al. Variation characteristics of microorganisms at different soil depths of typical forests in southwest China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2023, 34(3): 614-622.

[19] 杨安娜,陆云峰,张俊红,等. 杉木人工林土壤养分及酸杆菌群落结构变化[J]. 林业科学,2019,55(1):119-127.
YANG A N, LU Y F, ZHANG J H, et al. Changes in soil nutrients and acidobacteria community structure in *Cunninghamia lanceolata* plantations[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2019, 55(1): 119-127.

[20] 孔维一,王雪涵,董昆,等. 古油松下地被及其对土壤细菌群落多样性的影响[J]. 北京农学院学报,2021,36(2):101-106.
KONG W Y, WANG X H, DONG K, et al. Investigation on the ground cover plants under ancient *Pinus tabulaeformis* and the influence on soil bacterial community diversity[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2021, 36(2): 101-106.

[21] 曹升,潘菲,林根根,等. 不同林龄杉木林土壤细菌群落结构与土壤酶活性变化研究[J]. 生态学报,2021,41(5):1846-1856.
CAO S, PAN F, LIN G G, et al. Changes of soil bacterial structure and soil enzyme activity in Chinese fir forest of different ages[J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(5): 1846-1856.

[22] KUYKENDALL L D. *Bradyrhizobium*[M]. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, 2015: 1-11.

[23] YOON J H, PARK Y H. The genus *Nocardioides*[M]// The Prokaryotes. New York, NY: Springer New York, 2006: 1099-1113.

[24] MA Y H, FU S L, ZHANG X P, et al. Intercropping improves soil nutrient availability, soil enzyme activity and tea quantity and quality[J]. Applied Soil Ecology, 2017, 119: 171-178.

[25] JIAN S Y, LI J W, CHEN J, et al. Soil extracellular enzyme activities, soil carbon and nitrogen storage under nitrogen fertilization: a meta-analysis[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 101: 32-43.

[26] BAO Y Y, DOLFING J, GUO Z Y, et al. Important ecophysiological roles of non-dominant Actinobacteria in plant residue decomposition, especially in less fertile soils[J]. Microbiome, 2021, 9(1): 84.

[27] FU Y Y, LUO Y, AUWAL M, et al. Biochar accelerates soil organic carbon mineralization via rhizodeposit-activated Actinobacteria[J]. Biology and Fertility of Soils, 2022, 58(5): 565-577.

[28] RANJANI A, DHANASEKARAN D, GOPINATH P M. An introduction to Actinobacteria[M]// Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications. Intechopen, 2016.

[29] 杨蕊琪. 青藏高原土壤中原油降解细菌的多样性及降解特性研究[D]. 兰州:兰州交通大学,2016.
YANG R Q. Diversity and degradation characteristics of low temperature crude oil-degrading bacteria from the soils in the Qinghai-tibet Plateau[D]. Lanzhou: Lanzhou Jiatong University, 2016.

[30] RUTIGLIANO F A, D'ASCOLI R, VIRZO DE SANTO A. Soil microbial metabolism and nutrient status in a Mediterranean area as affected by plant cover[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(11): 1719-1729.

[31] LIANG C, SCHIMEL J P, JASTROW J D. The importance of anabolism in microbial control over soil carbon storage[J]. Nature Microbiology, 2017, 2: 17105.

[32] BOKHORST S, KARDOL P, BELLINGHAM P J, et al. Responses of communities of soil organisms and plants to soil aging at two contrasting long-term chronosequences[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, 106: 69-79.

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net