

红壤区桉树人工林与不同林分土壤微生物活性及细菌多样性的比较*

谭宏伟¹ 杨尚东^{1,2} 吴俊² 刘永贤¹ 熊柳梅¹ 周柳强¹
谢如林¹ 黄国勤³ 赵其国⁴

(1 广西农业科学院/广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 南宁 530007)

(2 广西大学农学院, 南宁 530004)

(3 江西农业大学生态科学研究中心, 南昌 330045)

(4 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要 以广西红壤区桉树人工林、马尾松人工林和天然阔叶林为对象, 采用 PCR-DGGE 以及稀释平板法等现代和传统分析技术, 比较分析了不同林分土壤生物学性状以及细菌群落结构的特征。结果表明: 桉树对林地土壤可培养微生物数量的影响效果虽逊于天然阔叶林树种, 但与广西乡土树种马尾松之间并无显著差异。此外, 桉树人工林土壤中涉及碳、氮、磷循环的土壤酶活性低于天然阔叶林和马尾松人工林, 同样表征土壤肥力的微生物生物量碳、氮指标也逊于天然阔叶林, 但微生物生物量碳和氮在两种人工林之间无规律性的差异。同时, 桉树人工林土壤细菌多样性指数(H')、丰富度(S)以及均匀度(E_H)指数均逊于天然阔叶林, 但与广西乡土树种马尾松之间的差异并不显著。桉树对林地土壤肥力及生态环境的影响效果虽不及天然阔叶林树种, 但与广西乡土树种马尾松林的生态效应相仿。

关键词 红壤; 桉树; 马尾松; 阔叶林; 土壤肥力; 生态质量

中图分类号 Q938.1⁺3; S143; S154.36; S511

文献标识码 A

红壤(包括红壤、赤红壤和砖红壤, 下同)是广西主要的土壤类型, 面积达 1 074 万 hm^2 , 占广西土地总面积的 65.55%^[1]。但是, 广西虽然拥有较为丰富的水热资源, 但在时空分布上极不均匀; 尤其是夏季高温多雨, 不仅导致土壤中有机的分解速度加快, 而且较强的降雨还容易造成大面积的水土流失。根据近期我国水利和土壤普查发现^[2], 包括广西在内的南方红壤区是目前我国水土流失最严重的区域之一。严重的水土流失不仅导致了土壤质量恶化, 影响区域粮食安全, 而且导致了区域河流、水库的泥沙淤积, 加剧了“水质性缺水”以及人居环境恶化等社会问题。另一方面, 南方红壤区的水土流失是一个渐变的过程, 在此过程中人们意识不到或不易发觉其危害性, 可一旦达到突变状态, 人们觉察到它的危害时, 却为时已晚。因此, 红壤

区的水土流失治理任务十分紧迫。

桉树(*Eucalyptus*)是世界著名的速生树种, 具有适应性广、生长快、短期可采伐的特点, 是目前主要的工业原料林树种。据《广西林业发展“十二五”总体规划》, 到 2015 年桉树人工林总面积由现在的 165 万 hm^2 增加至 200 万 hm^2 , 约占全区森林总面积的 1/7。然而, 大面积营造桉树纯林在提高经济效益的同时也存在一些不容忽视的问题。由于桉树生长速度快, 轮伐期短(6~7 a), 对土壤养分需求量大, 可能会导致潜在的桉树人工林土壤质量下降^[3]。因此, 开展红壤区桉树人工林土壤质量的特征研究, 将有助于防止红壤区桉树人工林土壤质量潜在的下降趋势, 同时亦对提升桉树人工林土壤肥力和生态质量具有积极的作用和意义。

微生物是土壤生态系统的重要组成部分, 广泛

* 广西壮族自治区重大项目(桂科大 1347001)、国家自然科学基金重点项目(U1033004)、IPNI 项目、广西农业科学院科技发展基金重点项目(2007001Z)、IPI 国际合作项目(GX1997—2017)、国家农业部专项(201003014)资助

作者简介: 谭宏伟(1961—), 男, 广西来宾人, 研究员, 主要从事土壤学、植物营养学和土壤生态学方向的研究。E-mail: hongwei_tan@163.com

收稿日期: 2013-09-17; 收到修改稿日期: 2014-01-05

参与土壤有机和无机物质的循环转化,其多样性及活性可以作为衡量土壤肥力的一个重要指标。红壤中微生物多样性及其在土壤生态系统中的作用因此也受到广泛的关注^[4]。

本文通过对广西柳州鹿寨县黄冕林场的桉树人工林、马尾松人工林和天然阔叶林地土壤生物学性状及细菌群落结构进行分析比较,旨在从土壤微生物学角度评价桉树对土壤生态质量的影响,为在退化红壤区发展可持续桉树产业提供理论依据和参考。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

调查地点位于广西柳州鹿寨黄冕林场(北纬 24° 75', 东经 109° 90'), 该林场属南亚热带季风气候区,

年平均气温 20.0 °C, 平均降雨量 1 500 mm。林地均为丘陵山地土壤由砂页岩发育而来的低丘红壤。研究区林场种植的林木类型分别为桉树(*Eucalyptus*) (二代林, 7~8 a)、天然西南桦(*Betula alnoides*) 阔叶林和马尾松(*Pinus massoniana*) 人工林(20 a)。

1.2 样品采集

土壤样品于 2012 年 4 月 1 日采集, 分别取自林龄为 7~8 a 的二代桉树人工林、天然阔叶林和林龄为 20 a 的马尾松人工林地, 采集地点海拔均为 250 m。具体采样方法: 各林地随机选取 5 个点, 去除地表的凋落物层, 然后挖取剖面。分表层(0~40 cm)、中层(40~100 cm)、下层(100~150 cm) 采集, 先取下层, 再取中层, 最后取表层。每个土壤采集混匀后无菌袋收集, 过 2 mm 筛后置于 4 °C 保存, 用于土壤生物学性状及细菌群落结构的分析。各林地土壤的理化性状如表 1 所示。

表 1 桉树人工林、马尾松人工林和天然阔叶林土壤理化性状

Table 1 Physico-chemical properties of the soils collected from the eucalyptus and pine forests and natural broadleaf forest

林地 Forest lands	土层 Soil layer (cm)	pH	有机质 Organic matter (g kg ⁻¹)	全氮 Total N (g kg ⁻¹)	全磷 Total P (g kg ⁻¹)	全钾 Total K (g kg ⁻¹)	碱解氮 Alkalinized N (mg kg ⁻¹)	速效磷 Available P (mg kg ⁻¹)	速效钾 Available K (mg kg ⁻¹)
天然阔叶林 Natural broadleaf forest	0~40	4.50	27.42	1.56	0.46	11.48	144.0	2.41	109.0
	40~100	4.98	12.90	1.19	0.45	14.42	96.0	1.05	79.0
	100~150	5.18	5.50	0.76	0.39	12.01	20.0	1.17	61.0
桉树林 Eucalyptus forest	0~40	4.44	30.61	1.38	0.41	11.49	97.0	2.36	48.0
	40~100	4.50	9.63	0.83	0.29	13.86	36.0	1.09	31.0
	100~150	4.66	9.68	0.69	0.33	15.77	3.0	0.88	29.0
马尾松林 Pine forest	0~40	4.40	38.79	2.10	0.45	17.95	129.0	0.96	64.0
	40~100	4.46	22.38	1.50	0.47	19.71	76.0	0.89	44.0
	100~150	4.56	4.45	1.08	0.39	29.34	35.0	0.69	33.0

1.3 分析方法

土壤微生物活性测定: 土壤微生物数量采用稀释平板法^[5]。微生物生物量碳、氮采用氯仿熏蒸提取法^[6-7]测定。 β -葡糖苷酶(β -Glucosidase)活性采用 Hayano 法^[8]测定; 蛋白酶(protease)活性采用 Ladd 法^[9]测定; 磷酸酶(phosphatase)活性采用 Tabatabai 和 Bremner 的方法^[10]测定。

土壤细菌群落结构: 土壤基因组总 DNA 的提取, 参照 Krsek 和 Wellington 的方法^[11]并稍加修改进行。称取 5 g 土壤, 采用提取液和回收试剂盒(Biospin gel extraction kit, Bioflux, 产品号: bsc02m1) 进行基因组总 DNA 的提取和纯化, 粗提和纯化结果

采用 1.0% (W/V) 琼脂糖凝胶电泳检测; 纯化后样品于 -20 °C 冰箱保存备用。

土壤细菌 16S rDNA V3 可变区的 PCR 扩增, 采用对大多数细菌的 16S rRNA 基因 V3 区具有特异性的引物对 F338GC 和 R518^[12-14], 它们的序列(上游引物)分别为 F338GC5'-(CGCCCGCCGCGCGCGCGGGCGGGCGGGGGCAGCGGGGGACTCCTACGGAGGCAGCAG-3'); 下游引物为 R518 (5'-AT-TACCGCGGCTGCTGG-3'), PCR 产物用 1.5% (W/V) 琼脂糖凝胶电泳检测。

变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析: 采用 Bio-Rad 公司 DCode™ 基因突变检测系统对 PCR 反应产物分

离。样品在变性剂浓度 30%~60% (100% 的变性胶为 7 mol L⁻¹ 的尿素和 40% 的去离子甲酰胺的混合物) 的 8% 聚丙烯酰胺凝胶中, 在 100 V 的恒定电压下, 60 °C 电泳 6 h。电泳完毕后, 凝胶银染 20 ~ 30 min 后用 GelDoc 凝胶成像分析系统 (北京赛百奥科技有限公司) 观察并拍照。

1.4 数据处理

采用 Quantity One 分析软件 (Bio-Rad) 对各土壤样品的电泳条带多少及密度进行定量分析。多样性指数 (Shannon-Wiener index, H')、丰富度 (S) 和均匀度 (E_H) 的计算方法参照罗海峰等^[15] 的方法进行。数据处理采用 Excel 2003 进行。

2 结果

2.1 桉树人工林土壤可培养微生物数量特征

由表 2 可知, 无论是桉树人工林、天然阔叶林或马尾松人工林地土壤可培养微生物数量大小的顺序均呈细菌 > 放线菌 > 真菌的趋势, 并且可培养微生物数量都随着土层的下降而显著减少。这一分布趋势与冯健和张健^[16] 在桉树人工林的研究结果相似。首先, 桉树人工林表层土壤中可培养细菌数量虽然显著低于天然阔叶林, 但与乡土树种马尾松

之间并无显著差异; 同时各林分土壤剖面中下层土壤之间可培养细菌数量均呈无显著差异; 其次, 桉树人工林表层土壤中可培养真菌数量虽然极显著低于天然阔叶林, 但极显著高于马尾松人工林。各林分土壤剖面中层土壤中可培养真菌数量虽呈现不同程度的差异, 但各林分的下层土壤之间可培养真菌数量同样呈现无显著差异的特征。桉树人工林土壤可培养放线菌数量与细菌、真菌的变化相异, 桉树人工林表层土壤中可培养放线菌数量虽均极显著高于马尾松人工林, 但与天然阔叶林之间无显著差异。同时, 各林分中层土壤的可培养放线菌数量呈极显著差异状况; 下层土壤中桉树人工林的可培养放线菌数量虽与马尾松人工林之间无显著差异, 但亦与天然阔叶林之间存在极显著差异。土壤微生物数量受土壤温度、湿度、通气状况、耕作制度、有机质含量及作物种类等因素的影响^[17]。本文中的土壤样品采自相同红壤区域内三种不同林分类型, 气候条件一致, 土壤有机质含量差异不大 (表 1), 作物种类应成为主要的影响因素, 在影响土壤微生物数量上扮演着重要的角色。结果表明: 桉树树种对土壤微生物数量的影响效果虽逊于天然阔叶林树种, 但与广西乡土树种马尾松之间并无显著差异。

表 2 桉树人工林、马尾松人工林和天然阔叶林土壤微生物数量的比较

Table 2 Comparison in number of culturable soil microorganisms between eucalyptus forest, pine forest and natural broadleaf forest

林地 Forest lands	土层 Soil layer (cm)	细菌 Bacteria (10 ⁶ cfu g ⁻¹)	真菌 Fungi (10 ⁴ cfu g ⁻¹)	放线菌 Actinomycetes (10 ⁵ cfu g ⁻¹)
天然阔叶林 Natural broadleaf forest	0 ~ 40	46.2 ± 5.9aA	4.7 ± 0.3aA	82.6 ± 2.4aA
	40 ~ 100	23.2 ± 3.8cC	2.6 ± 0.5bcBC	55.4 ± 3.3cC
	100 ~ 150	8.6 ± 2.4dD	0.4 ± 0.1eE	39.0 ± 4.2dD
桉树林 Eucalyptus forest	0 ~ 40	38.8 ± 6.4bAB	3.0 ± 0.3bB	79.2 ± 4.5aA
	40 ~ 100	24.0 ± 3.4cC	2.2 ± 0.5cCD	37.6 ± 3.5dD
	100 ~ 150	6.0 ± 1.4dD	0.4 ± 0.1eE	17.8 ± 1.7fF
马尾松林 Pine forest	0 ~ 40	37.6 ± 3.8bB	1.6 ± 0.4dD	66.6 ± 4.6bB
	40 ~ 100	22.2 ± 3.7cC	0.7 ± 0.1eE	29.8 ± 5.6eE
	100 ~ 150	4.8 ± 1.7dD	0.3 ± 0.1eE	14.8 ± 2.1fF

2.2 桉树人工林土壤酶活性特征

β -葡糖苷酶是表征土壤碳素循环速度的重要指标之一。桉树人工林、马尾松人工林以及天然阔叶林土壤中 β -葡糖苷酶活性大小均随着土层深度的增加而递减。同时, 虽然桉树人工林表层土壤

中有机质含量并非最低 (表 1), 但不同林分类型土壤中各土层土壤中 β -葡糖苷酶活性均以天然阔叶林为最高, 其次分别为马尾松人工林和桉树人工林, 而且各林分之间土壤 β -葡糖苷酶活性存在极显著差异。这一结果表明: 桉树对林分土壤的碳素循

环影响效果逊于天然阔叶林和马尾松树种,其原因可能与不同林分之间土壤微生物数量存在显著差异之外(表2),不同树种的特性,如落叶与否以及落叶中碳含量等因素亦是影响林分土壤那种 β -葡糖苷酶活性大小的因素之一。

土壤磷酸酶是一类催化土壤有机磷化合物矿化的酶,其活性高低直接影响着土壤的有机磷分解转化及其生物有效性。土壤磷酸酶包括酸性磷酸酶、中性磷酸酶和碱性磷酸酶^[18]。本试验供试土壤pH均在6以下,所以仅测定其中的酸性磷酸酶。从图1可以看出,同样地,各林分土壤中酸性磷酸酶活性均随着土层的降低而下降,同时磷酸酶活性以天然阔叶林为最高,桉树人工林为最低,而且各土层中磷酸酶活性均与天然阔叶林和马尾松人工林之间呈显著差异水平。同时,从表1也可以看出,虽然各林分土壤的全磷含量差异不大,但土壤速效磷含量也表现出桉树人工林低于天然阔叶林而高于

马尾松针叶林的现象。这一结果表明:桉树人工林土壤中有有机磷的矿化以及生物有效性较低。因此,在发展桉树人工林中尤其需注重磷肥的补充。

蛋白酶参与土壤中蛋白质以及其他含氮有机化合物的转化反应,其水解产物是植物吸收氮的来源之一^[19]。蛋白酶活性受植物根系分泌物、微生物种类和群落结构以及土壤特性等因素的影响^[20]。不同类型林分土壤中蛋白酶活性的变化与 β -葡糖苷酶的变化趋势相似,同样地随着土层的增加而递减,而且各土层中蛋白酶活性以天然阔叶林土壤为最高,其次为马尾松人工林土壤,但下层土壤中桉树人工林与马尾松人工林之间无显著差异(图1)。另一方面,三种不同类型林分土壤中的全氮含量与碱解氮含量亦表现出与蛋白酶活性大小相似的趋势。结果表明:桉树树种对林分土壤中氮循环的影响效果同样逊于天然阔叶林西南桦树种和马尾松树种。

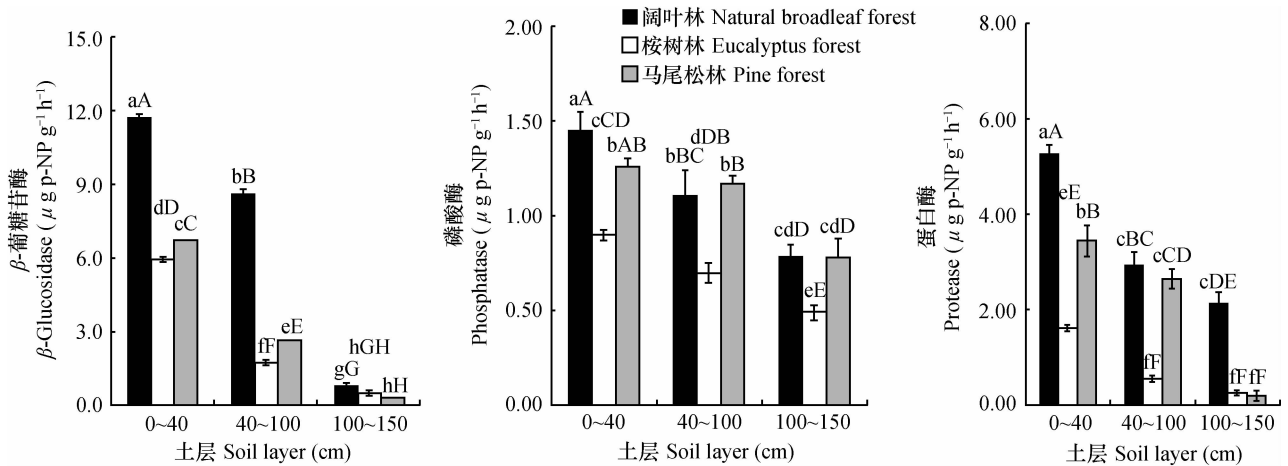


图1 桉树人工林、马尾松人工林和天然阔叶林土壤酶活性变化比较

Fig. 1 Comparison in soil enzyme activity between the eucalyptus forest, pine forest and natural broadleaf forest

2.3 桉树人工林土壤微生物生物量特征

研究表明,微生物量越大,土壤保肥作用越强,并使土壤养分趋于积累。因此,土壤微生物生物量是植物矿质养分的源和汇,是稳定态养分转变为有效态养分的催化剂^[21]。由图2可知,不同林分土壤中土壤微生物生物量碳和氮均随着土层深度的增加而递减。而且各土层中土壤微生物生物量碳和氮量均以天然阔叶林为最高,均极显著高于两种人工林土壤。另一方面,桉树人工林和马尾松人工林土壤之间,表层土壤(0~40 cm)中土壤微生物生物量碳并不存在显著差异,而在中层(40~100 cm)土壤中马尾松人工林土壤的微生物生物量碳却极显著高于桉树人工林,至下层(100~

150 cm)时,呈现出桉树人工林土壤的微生物生物量碳高于马尾松人工林;此外,两种人工林土壤中微生物生物量氮的变化呈现出与微生物生物量碳一致的特征趋势。

总之,作为表征土壤肥力的微生物生物量碳、氮指标在桉树人工林土壤中均显著低于天然阔叶林,但与乡土树种马尾松相比,对林分土壤微生物生物量碳、氮指标的影响效果依土层深度的变化而异,对于100 cm以上土层而言,虽逊于相应的马尾松树种,但对下层土壤的影响效果却优于松木树种。这一现象表明:桉树对表征土壤肥力和土壤生态环境的生物学指标影响复杂,与马尾松树种之间呈现出无显著的优劣差异。

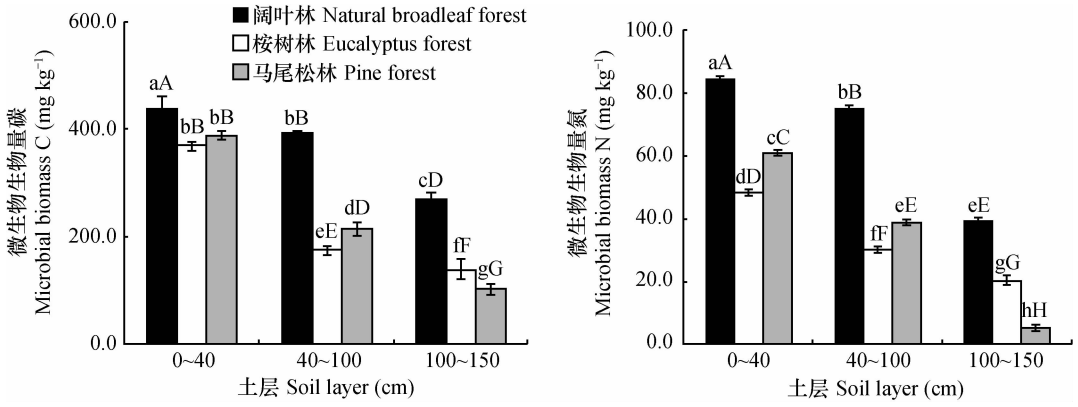


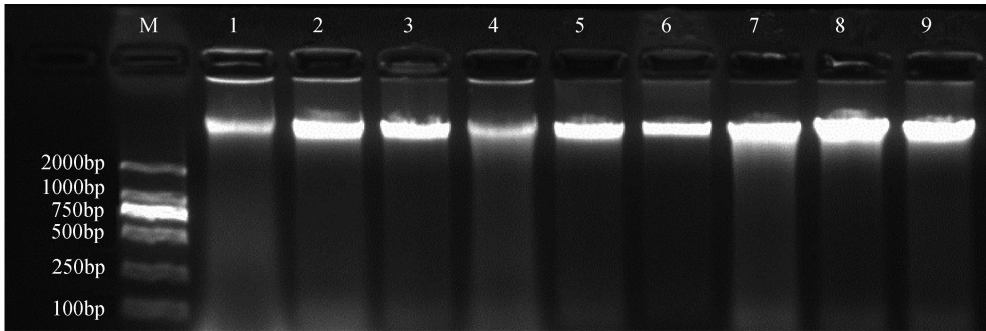
图 2 桉树人工林、马尾松人工林和天然阔叶林土壤微生物生物量特征比较

Fig. 2 Comparison in soil biomass C and N between the eucalyptus forest, pine forest and natural broadleaf forest

2.4 桉树人工林土壤细菌群落结构特征

2.4.1 基因组 DNA 提取和 PCR 扩增 分别对桉树人工林、马尾松人工林和天然阔叶林的土壤样品提取微生物总 DNA,取 4 μl DNA 样用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。从图 3 可以看出,试验提取的总

DNA 亮度较好,而且无明显拖带现象。此外,在核酸蛋白测定仪上测定 OD₂₆₀ 和 OD₂₈₀ 的值,OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值介于 1.8 和 2.0 之间,说明所得到的总 DNA 质量符合实验要求^[22]。



注: M: 分子量标准; 1: 天然阔叶林表层土壤 (0~40 cm) 总DNA; 2: 天然阔叶林中层土壤 (40~100 cm) 总DNA; 3: 天然阔叶林下层土壤 (100~150 cm) 总DNA; 4: 桉树人工林表层土壤 (0~40 cm) 总DNA; 5: 桉树人工林中层土壤 (40~100 cm) 总DNA; 6: 桉树人工林下层土壤 (100~150 cm) 总DNA; 7: 马尾松人工林表层土壤 (0~40 cm) 总DNA; 8: 马尾松人工林中层土壤 (40~100 cm) 总DNA; 9: 马尾松人工林下层土壤 (100~150 cm) 总DNA。处理编号下同 Note: M: Standards for lambda DNA/Hind+EcoRI marker; 1: Total DNA in the surface soil of the natural broadleaf forest; 2: Total DNA in the subsurface soil layer of the natural broadleaf forest; 3: Total DNA in the bottom soil layer of the natural broadleaf forest; 4: Total DNA in the surface soil of the eucalyptus plantation; 5: Total DNA in the subsurface soil layer of the eucalyptus plantation; 6: Total DNA in the bottom soil layer of the eucalyptus plantation; 7: Total DNA in the surface soil of the pine plantation; 8: Total DNA in the subsurface soil layer of the pine plantation; 9: Total DNA in the bottom soil layer of the pine plantation. Treatment codes are the same as below

图 3 桉树人工林、马尾松人工林和天然阔叶林土壤总 DNA 的琼脂糖电泳图谱

Fig. 3 Agarose gel electrophoresis of total DNA extracted from the soils collected from the eucalyptus, pine and natural broadleaf forests

以提取的土壤微生物总 DNA 为模板, F338-GC 和 R518 为扩增引物, 对 16S rDNA V3 可变区进行 PCR 扩增。如图 4 所示, 16S rDNA 扩增后的 DNA 片段长度为 250 bp 左右, 特异性好、无杂带, 与理论值相符。说明该 PCR 程序适用于 16S rDNA 的扩增, 并且能够得到较好的产物。

2.4.2 土壤细菌群落 DGGE 图谱分析 应用 DGGE 技术分离 16S rDNA V3 片段 PCR 产物, 可分

离到数目不等、位置各异的电泳条带 (图 5)。根据 DGGE 能分离长度相同而序列不同 DNA 的原理, 每一个条带大致与群落中的一个优势菌群或操作分类单元 (Operational taxonomic unit, OTU) 相对应, 条带数越多, 说明生物多样性越丰富; 条带染色后的荧光强度越亮, 表示该种属的数量越多。从而反映土壤中的微生物种类和数量^[11]。采用凝胶成像分析系统对 DGGE 图谱进行分析, 结果表明: 无论是

天然阔叶林、桉树人工林或马尾松人工林,土壤剖面细菌 DGGE 图谱的条带数量大小顺序为:表层土 > 中层土 > 下层土;此外,各类型林分间各个土层中细菌 DGGE 图谱的条带数量顺序分别为:表层土 (0 ~ 40 cm):天然阔叶林(S 为 17) > 马尾松人工林

(S 为 12) > 桉树人工林(S 为 11);中层土(40 ~ 100 cm):天然阔叶林(S 为 10) > 桉树人工林(S 为 9) > 马尾松人工林(S 为 8);下层土(100 ~ 150 cm):天然阔叶林(S 为 8) > 马尾松人工林(S 为 7) > 桉树人工林(S 为 5)。

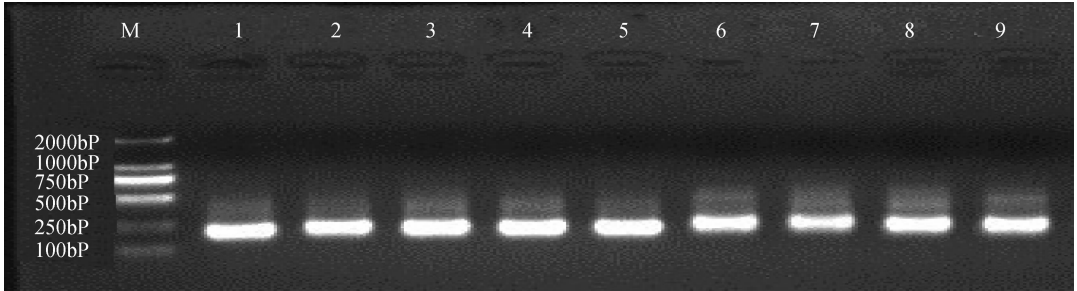


图 4 桉树人工林、马尾松人工林与天然阔叶林土壤细菌 16S rDNA 基因 V3 区扩增片段图谱

Fig. 4 PCR amplified fragment 16S rDNA (V3) gene of the soil bacteria collected from eucalyptus, pine and natural broadleaf forest soils

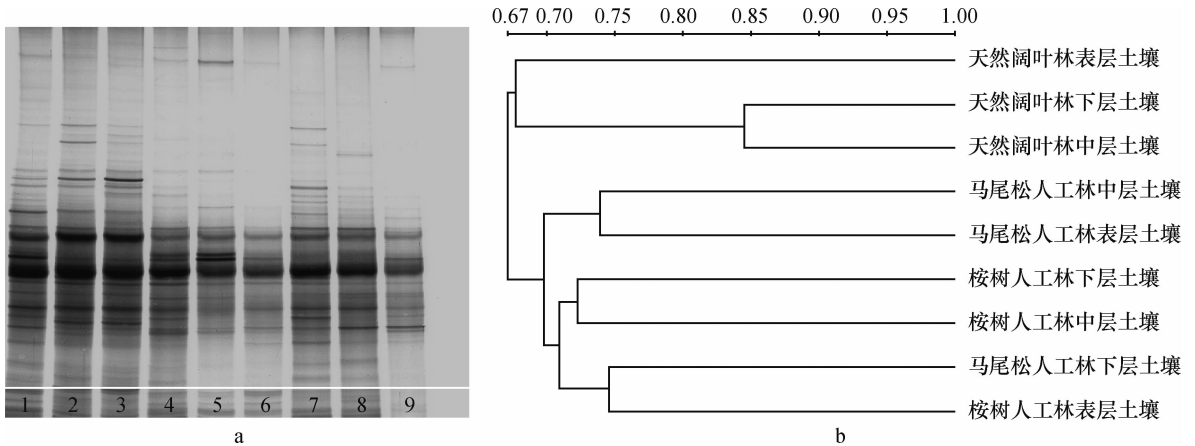


图 5 桉树人工林、马尾松人工林与天然阔叶林土壤细菌的 DGGE 图谱(a)和树形聚类分析(b)

Fig. 5 DGGE profile (a) and tree clustering analysis (b) of the soil bacteria collected from the eucalyptus, pine and natural broadleaf forest soils

这一结果表明:三种林分土壤中细菌丰富度以天然阔叶林为最高,其次分别为马尾松人工林和桉树人工林。其中,马尾松人工林土壤剖面中细菌丰富度虽然总体上略高于桉树人工林,但两者差异不大。这一现象亦表明林地土壤细菌丰富度极易受人为干扰而降低。同时,桉树人工林土壤细菌丰富度与广西乡土树种马尾松人工林之间并无明显差异。

壤区内,温度、光照、降雨等外界环境条件一致,但人为干扰(人工造林)、不同造林树种还是导致了土壤细菌种群发生了显著变化。

此外,针对桉树人工林、马尾松人工林和天然阔叶林土壤细菌多样性进行相似性分析。由图 5b 可知:桉树人工林和马尾松人工林与天然阔叶林之间,表层土壤细菌的相似性系数均低于 60%,而对应中层土或下层土则部分高于 60% 而部分又低于 60%,呈现无明显规律的变化趋势。该现象的具体原因有待于进一步的探究。一般认为,相似性系数高于 60% 的两个群体才具有较好的相似性^[23]。试验结果说明这三种类型林分虽然均位于相同的红

2.4.3 土壤细菌多样性分析 根据细菌 16S rDNA 的 PCR-DGGE 图谱中条带的位置和亮度的数值化结果计算了细菌群落结构指标 Shannon-Wiener 指数,Shannon-Wiener 指数值越大,表明细菌群落多样性越高^[24]。

分析不同林分土壤细菌 Shannon-Wiener 指数和均匀度指数。由表 3 可知:不同林分各土层土壤细菌多样性指数的大小顺序为:表层土(0 ~ 40 cm):天然阔叶林(2.551) > 马尾松人工林(1.976) > 桉树人工林(1.847);中层土(40 ~ 100 cm):天然阔叶林(1.840) > 桉树人工林(1.723) > 马尾松人工林(1.475);下层土(100 ~ 150 cm):天然阔叶林(1.777) > 马尾松人工林(1.390) > 桉树人工林

(1.191)。这些结果说明:桉树人工林和马尾松人工林土壤细菌多样性逊于天然阔叶林的同时,桉树与广西的乡土树种马尾松对林地土壤细菌多样性的影响方面并无明显差异,甚至在部分土层(40~100 cm)桉树人工林细菌多样性指数要高于相应的马尾松人工林。

另一方面,均匀度是表示物种在环境中的分布

状况,各物种数目越接近,数值越高^[25]。同样由表3可知:三种类型林分土壤中细菌均匀度指数以天然阔叶林为最高,而桉树人工林和马尾松人工林之间各土层土壤细菌均匀度指数并无大的差异。表明桉树这一外来造林树种对土壤细菌种群的分布以及菌群种类的影响效果与广西的乡土树种马尾松相类似。

表3 桉树人工林、马尾松人工林和天然阔叶林土壤细菌种群多样性和均匀度指数

Table 3 Shannon-Wiener (H) and Evenness (E_H) of bacterial communities in the eucalyptus, pine and natural broadleaf forest soils

林地 Forest lands	土层 Soil layer (cm)	多样性指数 Shannon-Wiener index (H)	丰富度 Richness (S)	均匀度 Evenness (E_H)
天然阔叶林 Natural broadleaf forest	0~40	2.551	17	0.900
	40~100	1.840	10	0.799
桉树林 Eucalyptus forest	100~150	1.777	8	0.855
	0~40	1.847	11	0.770
马尾松林 Pine forest	40~100	1.723	9	0.784
	100~150	1.191	5	0.740
	0~40	1.976	12	0.795
	40~100	1.475	8	0.758
	100~150	1.390	8	0.668

3 讨论

广西桉树面积及木材产量居全国首位。“十一五”期末,广西桉树面积已发展至165万 hm^2 。据《广西林业发展“十二五”总体规划》,计划至2015年,广西桉树面积将发展到200万 hm^2 ,将占广西全区森林总面积的1/7。但桉树毕竟属于外来树种,大面积营造桉树纯林在提高经济收益的同时也存在一些不容忽视的问题。如桉树人工林的速生高产导致土壤养分消耗过多,引起土壤地力衰退^[26]。但以往有关桉树人工林引起土壤肥力衰退的研究多集中在对桉树人工林土壤养分含量的分析上^[27-28],仍缺乏对表征土壤肥力的生物学性状及微生物群落结构等指标的分析。因此,至今无法全面、系统地反映桉树人工林的肥力特征。为此,本文针对桉树人工林的生物学性状及细菌群落结构展开分析。

土壤微生物数量的分布受林型、植被、林分组成和土壤养分含量等理化及生态因素影响,其中与林型的关系尤为密切^[29-30]。本文的分析结果显示:天然阔叶林土壤,尤其是表层土壤中可培养细菌、真菌和放线菌数量均显著高于相应的桉树人工林

和马尾松人工林土壤。另一方面,桉树人工林土壤剖面各土层土壤中可培养细菌数量与马尾松人工林相比,两者间呈现无显著差异;但可培养真菌和放线菌数量则前者显著高于后者,造成这一现象的原因可能是两种人工林地土壤中养分含量不一致所致(表1)。由于真菌和放线菌分别是土壤有机质以及难分解物质分解的主要成员,均拥有较复杂的酶系统,能分解纤维素、半纤维素和木质素等很多难分解物质,在土壤物质转化过程中扮演着重要角色。可培养微生物数量的分析结果表明,桉树人工林土壤中物质循环转化的能力虽逊于天然阔叶林,但与广西的乡土树种马尾松相比毫不逊色,尤其在难分解物质的降解能力上甚至优于后者。

土壤酶主要来源于土壤微生物和根系分泌物。土壤有机质的分解转化,依赖于微生物所产生的酶具有的催化活性来推动。由图1可知,无论涉及碳素循环的 β -葡糖苷酶、或涉及土壤磷循环的磷酸酶以及涉及氮循环的蛋白酶活性均呈天然阔叶林>马尾松人工林>桉树人工林的趋势。这一现象说明桉树人工林土壤中涉及碳、氮、磷循环的生物活动作用强度不仅低于天然阔叶林,而且也低于马尾松人工林。这一结果亦说明桉树人工林土壤中

养分循环作用强度不仅逊于天然阔叶林,而且也逊于马尾松人工林。结合桉树快速生长的特性,桉树人工林中相同的木材产出量可能需要较马尾松人工林更加大的肥料施用量或施用次数,才能有效防止桉树人工林林地土壤肥力的衰退。

土壤微生物生物量是衡量土壤质量、维持土壤肥力和作物生产力的一个重要指标^[31]。三种林分类型土壤中微生物生物量碳、氮指标均以天然阔叶林为最高;而马尾松人工林和桉树人工林之间,土壤剖面的微生物量碳、氮指标呈无明显规律的变化趋势。如:桉树人工林表层土壤中的微生物生物量碳与马尾松人工林之间无显著差异,但在中层土壤中却呈马尾松人工林显著高于相应的桉树人工林土层,而在下层土中又呈与中层土相反的趋势。微生物生物量氮指标表现出与微生物生物量碳相仿的变化趋势。这一结果表明:无论是桉树人工林或马尾松人工林,虽然它们各自表征土壤肥力的微生物生物量碳、氮指标均逊于天然阔叶林,但两者间并未出现显著的规律性差异。这可能与桉树和马尾松人工林均为单一树种导致土壤细菌多样性下降有关。

如今,土壤微生物指标已被公认为土壤生态系统变化的预警及敏感指标^[32]。其中,土壤细菌占土壤微生物总数的70%~90%,是土壤中最活跃的因素^[33]。本文对三种林分类型土壤细菌群落结构的分析结果显示,土壤细菌多样性指数(H)、丰富度(S)以及均匀度(E_H)指数均以天然阔叶林为最高,这一结果表明无论是栽种桉树或马尾松人工林这种人为干扰的方式均导致了红壤区林分土壤生态系统发生显著变化。而桉树人工林与马尾松人工林之间,依剖面土层之间存在部分差异,但两者间并未表现出极显著的差异。此外,土壤细菌群落结构的相似性分析亦显示,三种不同林分之间土壤细菌的群落结构存在较大的差异。

4 结 论

种植桉树可导致红壤区林分土壤生态系统发生显著变化。其中,桉树对林地土壤可培养微生物数量的影响效果虽逊于天然阔叶林树种,但与广西的乡土树种马尾松之间并无显著差异,而且无论是天然阔叶林或是桉树人工林以及马尾松人工林,土壤微生物数量均呈现细菌>放线菌>真菌的趋势。此外,表征土壤肥力的 β -葡糖苷酶、磷酸酶和蛋白

酶活性呈现天然阔叶林>马尾松人工林>桉树人工林的趋势,而且微生物生物量碳、氮指标在桉树和马尾松人工林中均逊于天然阔叶林。同时,土壤细菌多样性指数(H)、丰富度(S)以及均匀度(E_H)指数均以天然阔叶林为最高,并且三种不同林分土壤细菌的群落结构存在较大的差异。简言之,种植桉树对林地土壤肥力及生态环境的影响效果虽逊于天然阔叶林树种,但与广西的乡土树种马尾松林的生态效应相仿。

参 考 文 献

- [1] 广西土壤肥料工作站. 广西土壤. 南宁:广西科学技术出版社,1994. Guangxi Soil and Fertilizer Station. Soil of Guangxi (In Chinese). Nanning:Guangxi Science and Technology Press,1994
- [2] 王晓平. 分区考察成果及防治对策. 分区五:南方红壤区. 中国水利,2009,7:35—39. Wang X P. Survey and proposal. Red soils region in Southern China (In Chinese). China Water Resources,2009,7:35—39
- [3] 王纪杰. 桉树人工林土壤质量变化特征. 南京:南京林业大学,2011. Wang J J. Variation characteristics of soil quality in eucalyptus plantations (In Chinese). Nanjing:Nanjing Forestry University,2011
- [4] 袁超磊,贺纪正,沈菊培,等. 一个红壤剖面微生物群落的焦磷酸测序法研究. 土壤学报,2013,50(1):138—149. Yuan C L, He J Z, Shen J P, et al. Pyrosequencing approach to study microbial composition in a red soil profile (In Chinese). Acta Pedologica Sinica,2013,50(1):138—149
- [5] 李振高,骆永明,腾应. 土壤与环境微生物研究法. 北京:科学出版社,2008. Li Z G, Luo Y M, Teng Y. Research methods of soil and environmental microorganisms (In Chinese). Beijing: Science Press,2008
- [6] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. Soil Biology & Biochemistry, 1987,19(6):703—707
- [7] Joergensen R G, Brookes P C. Ninhydrin-reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0.5 M K_2SO_4 soil extracts. Soil Biology & Biochemistry,1990,22:1023—1027
- [8] Hayano K. A method for the determination of β -glucosidase activity in soil. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 1973,19(2):103—108
- [9] Ladd J N. Properties of proteolytic enzymes extracted from soil. Soil Biology & Biochemistry,1972,4(2):227—237
- [10] Tabatabai M A, Bremner J M. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil Biology & Biochemistry, 1969,1:301—307
- [11] Krsek M, Wellington E M. Comparison of different methods for the isolation and purification of total community DNA from soil. Journal of Microbiological Methods,1999,39(1):1—16
- [12] Li A J, Yang S F, Li X Y, et al. Microbial population dynamics during aerobic sludge granulation at different organic loading

- rates. *Water Research*, 2008, 42(13):3552—3560
- [13] 刘玮,张嘉超,邓光华. 不同栽培时间三叶赤楠根际微生物多样性及其 PCR-DGGE 分析. *植物研究*, 2010, 30(5):582—587. Liu W, Zhang J C, Deng G H. Influence of cultivation time on the rhizosphere microbial diversity of *Syzygium grijsii* and its PCR-DGGE analysis (In Chinese). *Bulletin of Botanical Research*, 2010, 30(5):582—587
- [14] Van Hannen E J, Zwart G, van Agterveld M P, et al. Changes in bacterial and Eukaryotic community structure after mass lysis of filamentous cyanobacteria associated with virus. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(2):795—801
- [15] 罗海峰,齐鸿雁,张洪勋. 乙草胺对农田土壤细菌多样性的影响. *微生物学报*, 2004, 44(4):519—522. Luo H F, Qi H Y, Zhang H X. The impact of acetochl or the bacterial diversity in soil (In Chinese). *Acta Microbiologica Sinica*, 2004, 44(4):519—522
- [16] 冯健,张健. 巨桉人工林地土壤微生物类群的生态分布规律. *应用生态学报*, 2005, 16(8):1422—1426. Feng J, Zhang J. Ecological distribution patterns of soil microbes under artificial *Eucalyptus Grandis* stand (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(8):1422—1426
- [17] 刘久俊,方升佐,谢宝东,等. 生物覆盖对杨树人工林根际土壤微生物、酶活性及林木生长的影响. *应用生态学报*, 2008, 19(6):1204—1210. Liu J J, Fang S Z, Xie B D, et al. Effects of bio-mulching on rhizosphere soil microbial population, enzyme activity and tree growth in polar plantation (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(6):1204—1210
- [18] 和文祥,蒋新,余贵芬,等. 生态环境条件对土壤磷酸酶的影响. *西北农林科技大学学报:自然科学版*, 2003, 31(2):81—83, 88. He W X, Jiang X, Yu G F, et al. Influence of ecological-environmental conditions on soil phosphatase (In Chinese). *Journal of Northwest Science-Technology University of Agriculture and Forest: Natural Science Edition*, 2003, 31(2):81—83, 88
- [19] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京:农业出版社, 1986. Guan S Y. Soil enzyme and its research methods (In Chinese). Beijing: Agriculture Press, 1986
- [20] 杨万勤,王开运. 土壤酶研究动态与展望. *应用与环境生物学报*, 2002, 8(5):564—570. Yang W Q, Wang K Y. Advances on soil enzymology (In Chinese). *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2002, 8(5):564—570
- [21] Carter M R, Rennie D A. Dynamics of soil microbial biomass N under zero and shallow tillage for spring wheat using ^{15}N urea. *Plant Soil*, 1984, 76:157—164
- [22] 徐晓宇,闵航,刘和,等. 土壤微生物总 DNA 提取方法的比较. *农业生物技术学报*, 2005, 13(3):377—381. Xu X Y, Min H, Liu H, et al. Comparison of DNA extraction methods for PCR-DGGE analysis of bacterial community in soil (In Chinese). *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2005, 13(3):377—381
- [23] 薛冬,姚槐应,黄昌勇. 茶园土壤微生物群落基因多样性. *应用生态学报*, 2007, 18(4):843—847. Xue D, Yao H Y, Huang C Y. Genetic diversity of microbial communities in tea orchard soil (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(4):843—847
- [24] 吴展才,余旭胜,徐源泰. 采用分子生物学技术分析不同施肥土壤中细菌多样性. *中国农业科学*, 2005, 38(12):2474—2480. Wu Z C, Yu X S, Xu Y T. Analysis on microbial diversity of different agricultural soils by using molecular biology technique (In Chinese). *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(12):2474—2480
- [25] 陈法霖,张凯,郑华,等. PCR-DGGE 技术解析针叶和阔叶凋落物混合分解对土壤微生物群落结构的影响. *应用与环境生物学报*, 2011, 17(2):145—151. Chen F L, Zhang K, Zheng H, et al. Analysis the effect of mixed decomposition of conifer and broadleaf litters on soil microbial communities by using PCR-DGGE (In Chinese). *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2011, 17(2):145—151
- [26] 黄昭平. 广西桉树人工林种植情况及其对生态环境的影响. *河北林业科技*, 2011(2):44—46, 55. Huang Z P. *Eucalyptus robusta* plantation and their impact on the environment (In Chinese). *Journal of Heibei Forestry Science and Technology*, 2011(2):44—46, 55
- [27] 余婉丽,韦杰宏,黄晓路. 广西桉树人工林土壤养分现状及其变异性、相关性分析. *大众科技*, 2013, 15(2):68—71. Yu W L, Wei J H, Huang X L. Current situation of soil nutrient and analysis of its variable and correlation in eucalyptus plantations of Guangxi Provinc (In Chinese). *Popular Science & Technology*, 2013, 15(2):68—71
- [28] 段文军,王金叶. 广西喀斯特和红壤地区桉树人工林土壤理化性质对比研究. *生态环境学报*, 2013, 22(4):595—597. Duan W J, Wang J Y. Comparative study on the physical and chemical properties of eucalyptus plantation soil in Guangxi karst and red soil area (In Chinese). *Ecology and Environmental Sciences*, 2013, 22(4):595—597
- [29] 许景伟,王卫东,李成. 不同类型黑松混交林土壤微生物、酶及其与土壤养分关系的研究. *北京林业大学学报*, 2000, 22(1):51—55. Xu J W, Wang W D, Li C. The correlation among soil microorganism, enzyme and soil nutrient in different types of mixed stands of *Pinus thunbergii* (In Chinese). *Journal of Beijing Forestry University*, 2000, 22(1):51—55
- [30] 胡承彪,韦立秀,韦原连,等. 不同林型人工林土壤微生物区系及生化活性研究. *微生物学杂志*, 1990, 10(1):14—20. Hu C B, Wei L X, Wei Y L, et al. Studies on the soil microflora and the soil biochemical activity of artificial forests on different types of forest in the Qingyuan Forest Region of Yishan County, Guangxi (In Chinese). *Journal of Microbiology*, 1990, 10(1):14—20
- [31] Powlson D S, Brookes P C, Christensen B T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biology & Biochemistry*, 1987, 19(2):159—164
- [32] 任天志, Grego S. 持续农业中的土壤生物指标研究. *中国农业科学*, 2000, 33(1):68—75. Ren T Z, Grego S. Soil bioindicators in sustainable agriculture (In Chinese). *Scientia Agricultura Sinica*, 2000, 33(1):68—75
- [33] 曹志平. 土壤生态学. 北京:化学工业出版社, 2007:211—222. Cao Z P. Soil ecology (In Chinese). Beijing: Chemical Industry Press, 2007:211—222

COMPARISON OF *EUCALYPTUS* PLANTATION WITH AND OTHER FORESTS IN SOIL MICROBIAL ACTIVITY AND BACTERIAL DIVERSITY IN RED SOIL REGION, CHINA

Tan Hongwei¹ Yang Shangdong^{1,2} Wu Jun² Liu Yongxian¹ Xiong Liumei¹ Zhou Liuqiang¹
Xie Rulin¹ Huang Guoqin³ Zhao Qiguo⁴

(1 Guangxi Crop Genetic Improvement and Biotechnology Key Lab/Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

(2 Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530004, China)

(3 Ecological Science Research Center, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

(4 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract In order to evaluate impact of planting *Eucalyptus* on soil fertility and eco-environment in the red soil region of China, soil samples were collected from *Eucalyptus* and *Pinus massoniana* plantations and natural broadleaf forests in Luzhai County, Guangxi (China) for analysis and comparison of biological properties and structures of bacterial communities in the soils under different forests, using PCR-DGGE and dilution plate method. Results show that the number of culturable microorganism, such as bacteria, fungi and actinomycetes in the *Eucalyptus* forest soil was lower than in the natural broadleaf forest, but not much different from that in the *Pinus massoniana* forest soil. *Pinus massoniana* is an indigenous tree species of Guangxi. In addition, in terms of activities of soil enzymes that are involved in C, N and P recycling (β -Glucosidase, phosphatase and protease) the *Eucalyptus* plantation was inferior to the other two, and in terms of biomass C and N that characterizes soil fertility, it was inferior to the natural broadleaf forest, but did not have much regular difference from the *Pinus massoniana* plantation. Meanwhile, in terms of bacterial diversity index, richness and evenness, the *Eucalyptus* plantation was inferior to the natural broadleaf forest, but not much different from the *Pinus massoniana* plantation. All the findings indicate that *Eucalyptus* plantation, even though not so good as natural broadleaf forest, is more or less the same as *Pinus massoniana* in their impacts on soil fertility and ecological quality in degraded red soil regions in China.

Key words Red soil; *Eucalyptus*; *Pinus massoniana*; Broadleaf forest; Soil fertility; Ecological quality

(责任编辑:陈德明)