

ISSN 0564-3929

Acta Pedologica Sinica 土壤学报

Turang Xuebao

土壤学报

第五十二卷

第一期

二〇一五年一月

科学出版社



中国土壤学会
科学出版社

主办
出版

2015

第52卷 第1期

Vol.52 No.1

《土壤学报》编辑委员会

主 编: 史学正

执行编委: (按姓氏笔画为序)

丁维新	巨晓棠	王敬国	王朝辉	史 舟	宇万太	朱永官
李永涛	李芳柏	李保国	李 航	吴金水	沈其荣	张玉龙
张甘霖	张福锁	陈德明	邵明安	杨劲松	杨明义	杨林章
林先贵	依艳丽	周东美	周健民	金继运	逢焕成	胡 锋
施卫明	骆永明	赵小敏	贾仲君	徐国华	徐明岗	徐建明
崔中利	常志州	黄巧云	章明奎	蒋 新	彭新华	雷 梅
窦 森	廖宗文	蔡祖聪	蔡崇法	潘根兴	魏朝富	

编辑部主任: 陈德明

责任编辑: 汪枏生 卢 萍 檀满枝

土 壤 学 报

Turang Xuebao

(双月刊, 1948 年创刊)

第 52 卷 第 1 期 2015 年 1 月

ACTA PEDOLOGICA SINICA

(Bimonthly, Started in 1948)

Vol. 52 No. 1 Jan., 2015

编 辑 《土 壤 学 报》编 辑 委 员 会

地址: 南京市北京东路 71 号 邮政编码: 210008

电话: 025 - 86881237

E-mail: actapedo@issas.ac.cn

Edited by Editorial Board of Acta Pedologica Sinica

Add: 71 East Beijing Road, Nanjing 210008, China

Tel: 025 - 86881237

E-mail: actapedo@issas.ac.cn

主 编 史 学 正

Editor-in-Chief Shi Xuezheng

主 管 中 国 科 学 院

Superintended by Chinese Academy of Sciences

主 办 中 国 土 壤 学 会

Sponsored by Soil Science Society of China

承 办 中国科学院南京土壤研究所

Undertaken by Institute of Soil Science,
Chinese Academy of Sciences

出 版 科 学 出 版 社

Published by Science Press

地址: 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717

Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China

印刷装订 北京中科印刷有限公司

Printed by Beijing Zhongke Printing Limited Company

总 发 行 科 学 出 版 社

Distributed by Science Press

地址: 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717

Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China

电话: 010 - 64017032

Tel: 010 - 64017032

E-mail: journal@mail.sciencep.com

E-mail: journal@mail.sciencep.com

国 外 发 行 中国图书贸易总公司

Foreign China International Book Trading Corporation

地址: 北京 399 信箱 邮政编码: 100044

Add: P. O. Box 399, Beijing 100044, China

国内统一刊号: CN 32-1119/P

国内邮发代号: 2-560

国外发行代号: BM45

定价: 60.00 元

国 内 外 公 开 发 行



ISSN 0564-3929



0 1 >

9 770564 392156

DOI: 10.11766/trxb201312300625

黄土高原油松根际土壤酶活性及真菌群落多样性研究

——以黄龙山林场为例*

褚洪龙 李 莎 唐 明[†]

(西北农林科技大学林学院, 陕西杨凌 712100)

摘 要 为了解黄土高原油松林根际土壤酶活性和真菌群落多样性,本研究分析了陕西黄龙县不同样区油松根际土壤脲酶、碱性磷酸酶、多酚氧化酶和过氧化氢酶活性,并采用巢式 PCR-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)技术研究了油松根际土壤中真菌群落多样性。结果表明,该地区油松根际真菌群落相似性较高,但受坡向、海拔、土壤水分及人类扰动等诸多因素的影响,不同样区的真菌群落多样性和土壤酶活性存在差异。油松根际各土壤酶活性均表现出坡顶样地高于坡底样地,阴面样地高于阳面样地,林区路旁样地由于采样环境不同于林中样地,酶活性介于其他样地之间;丰富度(S)、Shannon-Wiener 指数(H')、Simpson 指数(D')、均匀度指数(E_H)分析表明,该区域油松根际土壤真菌群落多样性分布特征与酶活性分布特征相一致。相关性分析表明,除过氧化氢酶外,其余酶活性之间、以及与真菌多样性均呈显著正相关($p < 0.05$);土壤含水量与真菌多样性和土壤酶活性除多酚氧化酶外均呈显著正相关($p < 0.05$);而土壤 pH 与各种酶活性之间均未达显著相关水平($p > 0.05$)。土壤含水量是影响该地区真菌群落多样性与土壤酶活性主要因素之一。

关键词 黄土高原;油松;酶活性;真菌群落多样性;巢式 PCR-DGGE

中图分类号 S718.81 **文献标识码** A

油松(*Pinus tabulaeformis* Carr.)耐寒、耐旱、耐贫瘠,是黄土高原防风固沙、水土保持的先锋树种^[1],又是形成外生菌根(Ectomycorrhiza)的树种^[2]。菌根的形成,对宿主植物根际土壤酶活性和土壤微生物群落有重要的影响,张海涵等^[2]采用 BIOLOG 方法研究表明陕南商南和陕北安塞不同生态条件下油松菌根根际土壤微生物群落存在显著差异,张好强等^[3]研究了安塞纸坊沟流域柠条和沙棘根际丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)多样性及侵染状况与土壤因子的关系,封晔等^[4]采用末端限制性片段长度多态性(Terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)方法研究表明神木县六道沟流域 8 种植物根际 AMF 群落多样性对细菌群落多样性有显著影响,刘振坤等^[5]采用时空互代法研究了黄土高原丘陵区不同树龄刺槐林 AMF 的空间分布及其与根际土壤酶等土壤因子的关系。但是,关于油松根际土壤酶活性

与根际真菌群落多样性的研究鲜见报道,尤其是不同坡位土壤性质和坡面养分在降雨侵蚀过程中的再分配,造成的土壤理化性质及微生物分布差异^[6]对油松根际土壤酶和菌根真菌的群落的影响尚无研究报导。因此,本文采用巢式 PCR-变性梯度凝胶电泳(Nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis, PCR-DGGE)技术对黄土高原黄龙山林场不同坡位油松菌根根际真菌群落进行了研究,并分析了根际真菌群落与土壤酶活性之间的关系。为揭示土壤微生物-土壤酶活性-植被相互作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集

采样地为陕西省黄龙县黄龙山雷寺庄林场,位于黄龙山南麓(东经 110°02', 北纬 35°32'),海拔

* 林业公益性行业科研专项经费项目(201404217)、国家自然科学基金项目(31170567, 31270639)和长江学者和创新团队项目(IRT1035)资助

[†] 通讯作者, E-mail: tangm@nwsuaf.edu.cn

作者简介:褚洪龙(1988—),男,山东济宁人,硕士研究生,主要从事森林微生物方面研究。E-mail: chuxl77@126.com

收稿日期: 2013-12-30; 收到修改稿日期: 2014-02-27

963 ~ 1 784 m,属于暖温带半湿润半干旱季风气候,年均降雨量 612 mm,年均气温 8.6 ℃,极端最高气温 36.7 ℃,最低气温 -22.5 ℃。土壤类型为褐土。该流域是物种比较单一的油松林,混杂少量白桦(*Betula platyphylla*)、侧柏(*Platycladus orientalis*)、山杨(*Populus davidiana*)、辽东栎(*Quercus liaotungensis*)、沙棘(*Hippophae rhamnoides*)、虎榛子(*Ostryopsis davidiana*)等^[7]。土壤类型为褐土,主要发育在黄土母质上,养分含量分别为有机质 1.132 g kg⁻¹、全氮 0.552 g kg⁻¹、全磷 0.142 g kg⁻¹^[7-8]。

2009 年 9 月采集土壤样品,采样区设在林区路旁、林区阴面坡底和坡顶、阳面坡顶和坡底,油松林区路旁作为对照,共 5 个样地,依次记为:1#、2#、3#、4#、5#。每个样地随机选取 3 棵胸径 20 cm 左右的油松,在树冠垂直投影下,分东、南、西、北四个方向向下挖掘 20 ~ 40 cm 采样,将附着在根系表面的土壤在无菌自封袋中轻轻抖动大约 1 min,作为根际土^[2],将每棵油松四个方向土样混合后约 100 g 用标签纸做好标记置于冷藏盒中,带回实验室,每个样区 3 个重复,共 15 个土样。每个土样分为两部分,一部分放入 -20 ℃ 冰箱中保存,进行 DGGE 分析,另一部分用于测定土壤酶活性、含水量和 pH。油松立地条件见表 1。

表 1 油松立地条件			
Table 1 Environmental conditions of <i>P. tabulaeformis</i>			
Carr. forest studied			
样地编号 Sample code	采集地点 Sampling sites	海拔 Elevation(m)	平均胸径 Diameter(cm)
1#	林区路旁	1 000	18.6
	Roadside		
2#	阴面坡底	1 110	24.2
	Foot of shady slope		
3#	阴面坡顶	1 390	23.9
	Top of shady slope		
4#	阳面坡顶	1 320	23.8
	Top of sunny slope		
5#	阳面坡底	1 050	19.3
	Foot of sunny slope		

1.2 项目分析与测定

土壤 pH 用 PHS-3B 型精密 pH 计测定(水土比为 5:1)。土壤含水量采用烘干法测定^[9]。每个样品设 3 个重复。

脲酶活性的测定采用靛酚比色法,磷酸酶活性的

测定采用磷酸苯二钠比色法,多酚氧化酶活性的测定采用邻苯三酚比色法,过氧化氢酶活性的测定采用高锰酸钾滴定法^[10]。单位分别为 NH₃-N mg g⁻¹ h⁻¹、PhOH mg g⁻¹ h⁻¹、Ph(OH)₃ mg g⁻¹ h⁻¹ 和 KMnO₄ ml g⁻¹ h⁻¹ 分别表示酶催反应下每克土每小时氮的释放量、酚释放量、邻苯三酚分解量和 0.02 mol L⁻¹ 高锰酸钾消耗量。每个样品设 3 个重复。

参照王丽娜等高盐改进法从土壤中提取微生物总 DNA^[11]。DNA 粗提液经过 1% 琼脂糖胶电泳检测提取出 DNA 后,采用北京天根生化科技有限公司琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(DP209)对其进行纯化。纯化后保存于 -20 ℃。

巢式 PCR 扩增:以纯化的土壤微生物总 DNA 作为模板,采用引物 ITS1F 和 ITS4^[12-13] 在 BIO-RAD, S1000™ Thermal cyclers 型基因扩增仪进行第一次 PCR 反应;以第一次 PCR 产物作为模板,使用引物 ITS2 和 GC*-ITS1F^[14] 进行巢氏 PCR 反应。第一次反应体系为 50 μl 体积,ddH₂O 33.8 μl,10 倍缓冲液 5 μl, MgCl₂ (25 mmol L⁻¹) 4 μl, dNTP (2.5 mmol L⁻¹) 4 μl, Taq (5 u μl⁻¹) 0.2 μl,上下游引物各为 1 μl,模板 DNA 1 μl。第二次反应体系为 50 μl 体积,25 μl 2 × Taq Master Mix(康为公司),ddH₂O 22 μl,上下游引物各为 1 μl,第一次 PCR 产物 1 μl。PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测,以 DL2000 作为 DNA Marker(康为公司)。PCR 反应条件 94 ℃ 预变性 5 min,94 ℃ 变性 30 s,55 ℃ 退火 30 s、72 ℃ 延伸 30 s,共 30 个循环,最后 72 ℃ 延伸 5 min。

PCR 反应产物的变性梯度凝胶电泳(DGGE)及染色:DGGE 参照 Li 等^[15] 的方法并做了优化,PCR 产物在 DGGE 电泳装置(BIO-RAD)上进行。PAGE(聚丙烯酰胺凝胶)胶浓度为 8% (w/v),变性剂梯度为 30%~60%,凝胶板制好后,组装放在含 1 × TAE 的电泳槽中,预热至 58 ℃ 时,每孔加样 35 μl。在 120 V、58 ℃ 条件下电泳 7 h。完毕后用 EB 染色 10 min,然后在凝胶成像仪下进行观察、拍照^[16]。

1.3 数据分析

使用 Microsoft Office Excel 2003 和 SASS8.1 进行数据统计分析,所得 DGGE 图谱通过 Bio-Rad Quantity One 4.41 软件进行数字化处理,根据条带的出现或消失来建立二元矩阵。以条带的光密度作为物种相对丰度来分析真菌多样性,计算得出 Shannon-Wiener 指数(*H*)、Simpson 指数(*D*)、均匀度指数(*E_h*),丰富度(*S*)用各泳道出现的条带数表示。

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

$$D = \sum_{i=1}^n P_i^2$$

$$E_H = H/H_{\max} = H/\ln S$$

式中, n 代表每个泳道中检测到的条带数, S 表示 DGGE 图谱中的不同条带数的总和, P_i 表示每一泳道中各个条带的光密度占泳道中条带光密度总和的百分含量。

2 结 果

2.1 不同样地土壤酶活性与土壤含水量

所测定 4 种土壤酶活性在不同样地间的变化趋势比较一致(表 2), 均为 3#土样最高, 5#土样最低, 3#土样大于 2#土样, 4#土样大于 5#土样, 2#和 3#土样大于 4#、5#土样。其中 3#土样的磷酸酶和过氧化氢酶活性显著大于 2#土样($p < 0.05$); 4#土样的脲酶活性显著高于 5#土样($p < 0.05$); 2#和 3#土样的脲酶和多酚氧化酶活性显著高于 4#、5#土样($p < 0.05$)。说明坡顶土壤酶活性大于坡底, 阴面大于阳面。1#土样采集于林区路旁, 各土壤酶活性介于

其他样地之间。
2.2 油松根际真菌群落多样性

各个土壤样品的变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 谱如图 1 所示, 图 2 的泳道分析图谱以第 8 泳道为标尺, 其他泳道按照与其相似程度从高到低排列放在图 1 下方作参照。从图 1 中可以看出, 5 个样地 15 份土样的真菌 ITS 序列经 DGGE 分离后, 呈现出不同的带型。不同样区间既有相同的条带, 也有各自独特的条带, 说明 5 个样区中既有相同的真菌种类, 也有各自独特的真菌种类。条带的亮度反映出真菌相对生物量的多少^[17], 图 1 中 1#土样的条带 4 亮度最强, 说明 1#土样条带 4 所代表的真菌生物量最高。泳道中条带粗细不一, 对应其在 DGGE 胶上的密度大小不同。密度大, 则条带较粗; 密度小, 则条带较细^[16]。电泳条带的多少可以直观地反映样品中真菌群落的多样性^[17], 条带越多, 说明真菌多样性越丰富。5 个样区土壤样品中真菌条带数为 22~29, 说明油松根际土壤的真菌种类较为丰富。从条带的数量、亮度、粗细等方面可以看出真菌群落相似性较高, 但不同样地真菌的种类、生物量和多样性不同。

表 2 不同样地酶活性与土壤含水量
Table 2 Enzyme activities and soil water contents in different sample sites

样地编号 Sample code	脲酶 Urease (NH ₃ -N mg g ⁻¹ h ⁻¹)	磷酸酶 Phosphatase (PhOH mg g ⁻¹ h ⁻¹)	多酚氧化酶 Polyphenoloxidase (Ph(OH) ₃ mg g ⁻¹ h ⁻¹)	过氧化氢酶 Hydrogenperoxidase (KMnO ₄ ml g ⁻¹ h ⁻¹)	土壤含水量 Soil water content (%)
1#	0.020 ± 0.002b	0.168 ± 0.009c	0.628 ± 0.040b	0.209 ± 0.013b	10.27 ± 1.76b
2#	0.025 ± 0.002a	0.189 ± 0.006b	0.912 ± 0.064a	0.304 ± 0.021b	12.88 ± 1.39a
3#	0.027 ± 0.002a	0.220 ± 0.008a	0.944 ± 0.061a	0.315 ± 0.020a	13.70 ± 2.14a
4#	0.020 ± 0.002b	0.183 ± 0.006bc	0.700 ± 0.041b	0.233 ± 0.015b	9.99 ± 1.35b
5#	0.011 ± 0.001c	0.138 ± 0.006d	0.564 ± 0.039b	0.188 ± 0.013b	6.43 ± 1.27c

注: 平均值 ± 标准差。同列中字母不同表示差异显著 ($p < 0.05$)。下同 Note: Means ± Standard deviation. The different lowercase letters in the same column mean significant difference at 0.05 level. The same below

2.3 真菌群落的丰富度、Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数和均匀度

分别对 1#~5#土样的真菌丰富度、Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数、均匀度进行方差分析表明(表 3), 1#~5#土样的真菌丰富度状况与 Shannon-Wiener 指数和 Simpson 指数有较高的一致性。5#土样真菌丰富度最低; 并且 2#和 3#土样的真菌丰富度显著大于 5#土样的真菌丰富度($p < 0.05$), 3#土样真菌丰富度显著大于 1#土样($p < 0.05$), 其余样地土样

间真菌丰富度没有显著性差异($p > 0.05$)。说明不同坡位对真菌多样性有一定的影响。从数值上可以看出不同样地的真菌丰度不同, 其中 3#土样较 2#土样大, 4#土样较 5#土样大, 2#和 3#土样较 4#、5#土样大, 说明坡顶样地真菌种类较坡底样地多, 阴面样地较阳面样地多, 林区路旁样地真菌丰富度居中。样地间 Shannon-Wiener 指数的变化情况与真菌丰富度变化情况基本一致, 5#土样最低, 2#、3#、4#土样显著大于 5#土样($p < 0.05$), 3#土样显著大于 1#土样($p <$

0.05)。说明油松根际真菌群落的复杂程度与其真菌丰富度高度一致。样地间 Simpson 指数变化情况也与油松根际真菌丰富度、Shannon-Wiener 指数相符,但在数值上也有差异,说明油松根际真菌群落物种多样性与其复杂程度和真菌丰富度相一致。

除 2#样地外其余样地的均匀度均显著大于 1#样地的均匀度。3#、4#土样真菌的均匀度显著大于 1#、2#土样的,5#土样真菌的均匀度与其他土样间无显著差异。这可能是由于林区路旁和与坡底受到人为或自然环境扰动比较大的原因。

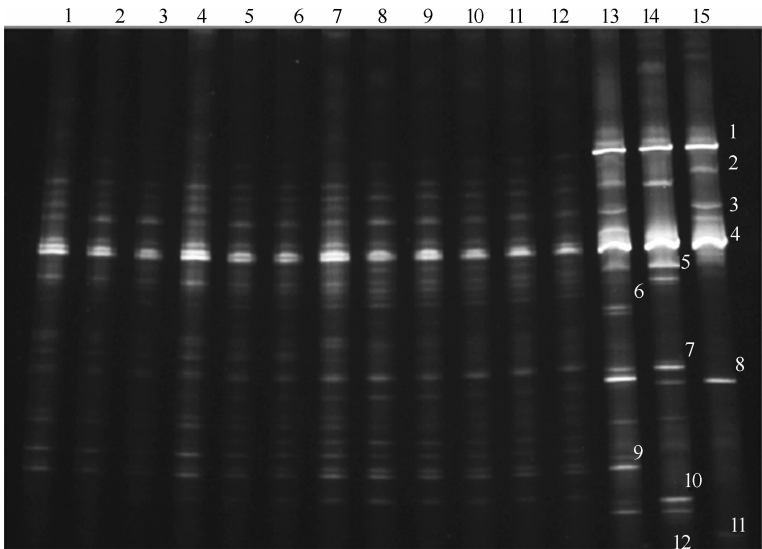
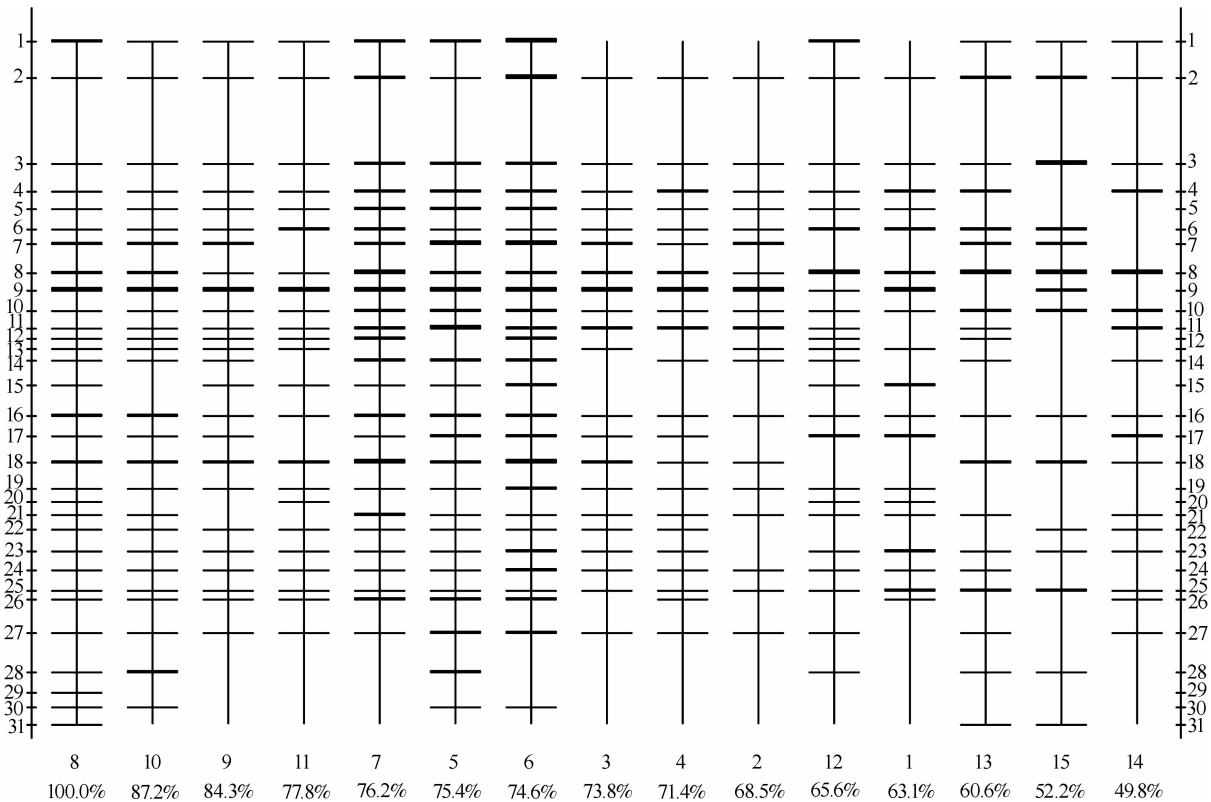


图 1 不同土壤样品的变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 分离图谱
Fig. 1 DGGE profiles of different soil samples



注:1~3 为 5#土壤,4~6 为 4#土壤,7~9 为 3#土壤,10~12 为 2#土壤,13~15 为 1#土壤 Note: No. 1~3 are of #5 soil; No. 4~6, of #4 soil; No. 7~9, of #3 soil; No. 10~12, of #2 soil; and No. 13~15, of #1 soil

图 2 DGGE 图谱的泳道分析
Fig. 2 Lane analysis of DGGE profiles of different samples
<http://pedologica.issas.ac.cn>

表 3 真菌群落丰富度、Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数和均匀度的方差分析

样地编号 Sample code	丰富度 Richness	Shannon-Wiener 指数 Shannon-Wiener index	Simpson 指数 Simpson index	均匀度 Evenness
1#	21.22 ± 1.66bc	4.226 ± 0.314bc	0.899 ± 0.021b	0.930 ± 0.132c
2#	23.83 ± 3.36ab	4.838 ± 0.151ab	0.930 ± 0.010ab	0.943 ± 0.005bc
3#	26.92 ± 3.75a	5.181 ± 0.081a	0.957 ± 0.003a	0.963 ± 0.008a
4#	22.88 ± 0.66abc	4.768 ± 0.132ab	0.916 ± 0.011b	0.965 ± 0.010a
5#	16.80 ± 1.76c	3.924 ± 0.378c	0.867 ± 0.024c	0.957 ± 0.007ab

2.4 土壤酶活性、pH、含水量与真菌多样性的相关性

相关性分析表明(表 4),5 个样地脲酶活性与真菌多样性呈显著正相关($p < 0.05$),磷酸酶活性和多酚氧化酶活性与真菌多样性呈极显著正相关($p < 0.01$),过氧化氢酶酶活性与真菌多样性未达显著水平($p > 0.05$);土壤含水量与真菌多样性呈

显著正相关($p < 0.05$),与脲酶活性和过氧化氢酶活性呈显著正相关($p < 0.05$),与磷酸酶活性呈极显著正相关($p < 0.01$),与多酚氧化酶活性未达显著水平($p > 0.05$);除过氧化氢酶外各种酶活性之间达显著正相关($p < 0.05$);土壤 pH 与真菌多样性、各种酶活性之间均未达显著相关($p > 0.05$)。

表 4 土壤酶活性、pH、含水量与真菌多样性的相关系数

项目 Item	Y	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6
Y	1.000						
X_1	0.940 *	1.000					
X_2	0.963 **	0.965 **	1.000				
X_3	0.974 **	0.908 *	0.888 *	1.000			
X_4	0.835	0.796	0.800	0.840	1.000		
X_5	0.638	0.735	0.551	0.764	0.628	1.000	
X_6	0.901 *	0.928 *	0.962 **	0.822	0.887 *	0.524	1.000

注: Y: 真菌丰富度; X_1 : 脲酶; X_2 : 磷酸酶; X_3 : 多酚氧化酶; X_4 : 过氧化氢酶; X_5 : pH; X_6 : 土壤含水量。* * 表示两者之间呈极显著相关性($p < 0.01$), * 表示两者之间呈显著相关性($p < 0.05$) Note: Y: Richness of fungus; X_1 : Urease; X_2 : Phosphatase; X_3 : Polyphenoloxidase; X_4 : Hydrogenperoxidase; X_5 : pH; X_6 : Soil water content. * * Correlation is significant at the 0.01 level, * Correlation is significant at the 0.05 level

3 讨 论

不同坡位土壤理化性质及微生物分布的差异主要是由坡面土壤性质和坡面养分在降雨侵蚀过程中的再分配所造成的^[6]。本研究中,坡顶油松根际土壤水分含量大于坡底,这可能与微地形的变化有关。此外,根际是环绕在植物根系且受根系影响的狭窄区域。它是植物根和土壤的界面,定殖了大量的微生物和无脊椎动物,被认为是地球上最动态的交界面^[18]。因此,可能在根际微生物、无脊椎动物和植物三者的共同作用下造成坡顶油松根际土壤水分含量大于坡底。土壤酶与微生物的关系密

切^[19],土壤酶多数来自微生物分泌,土壤微生物和土壤酶参与了几乎所有的土壤生物化学过程^[20],酶活性高低是土壤肥力的重要标志^[21]。本研究中,各种土壤酶活性均表现出坡顶样地高于坡底样地;阴面样地高于阳面样地;林区路旁样地酶活性介于其他样地之间,这与根际真菌多样性分布特征高度一致。坡顶油松根际微生物多样性与土壤酶活性均高于坡底,与土壤养分在坡面中的分布不同,土壤酶活性在坡地土壤的分布并没有在坡面流失和坡底富集的趋势^[23]。这除了与土壤酶的来源、生物学特征和微地形的变化有关^[24]更可能与根际微生物小生态圈有关系。土壤含水量是半干旱地区的制约因素,与各种酶活性均有一定的相关

性,尤其是与脲酶和碱性磷酸酶,达到了显著水平^[25],本研究样地位于陕西省韩城县,属于暖温带半湿润半干旱季风气候,所测各种酶活性除多酚氧化酶与土壤含水量未达显著相关外,其余酶活性均与土壤含水量呈显著正相关,其中碱性磷酸酶活性呈极显著正相关。此外,有研究认为温度升高会降低根际过氧化氢酶活性^[26],这也说明了过氧化氢酶活性坡顶高于坡底、阴面高于阳面的原因。

土壤酶活性与真菌多样性的相关性分析结果表明,所测酶活性中除过氧化氢酶外,其他 3 种酶活性均与真菌多样性呈显著正相关。这主要是因为土壤细菌、真菌和放线菌是土壤关键生态过程中土壤酶活性的重要来源^[27],真菌在分解枯枝落叶的微生物群体中占有较大优势^[26],所以真菌多样性丰富对酶活性有一定的积极作用。除过氧化氢酶外,其余酶活性之间呈显著正相关,各样地土壤 pH 在 6.62 左右,相差不大,不是影响土壤酶活性和真菌多样性分布的主要因素。

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分^[22],真核微生物是旱地土壤微生物中的主要类群,真菌又是真核微生物的主要组成^[20]。本文对黄龙山南麓地区油松根际真菌群落的研究结果表明,不同样地真菌的群落丰富度、Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数和均匀度存在差异,有些样地间达到显著水平($p > 0.05$)。坡顶样地油松根际真菌多样性高于坡底样地,阴面样地油松根际真菌多样性高于阳面样地,这可能与油松根际微环境有关。油松根际真菌丰富度与油松根际土壤含水量相关性分析表明,真菌丰富度与土壤含水量呈显著正相关关系($p > 0.05$),说明在半干旱地区油松根际土含水量越高真菌丰富度越大。油松根际真菌与油松根际微环境的相互影响有待进一步研究。

4 结 论

黄龙山雷寺庄地区油松根际真菌群落相似性较高,但受坡向、海拔、土壤水分及人类扰动等诸多因素的影响,不同样区的真菌群落多样性和土壤酶活性存在差异。土壤酶活性均表现为坡顶高于坡底、阴面高于阳面的变化趋势,与真菌群落多样性分布规律具有高度一致性。土壤含水量是影响该地区真菌多样性、土壤酶活性的主要因素。

参 考 文 献

[1] Yuan B C, Yue D X. Soil microbial and enzymatic activities

across a chronosequence of Chinese pine plantation development on the Loess Plateau of China. *Pedosphere*, 2012, 22 (1): 1—12

[2] 张海涵,唐明,陈辉,等. 不同生态条件下油松菌根根际土壤微生物群落. *生态学报*, 2007, 27 (12): 5463—5469. Zhang H H, Tang M, Chen H, et al. Microbial communities in *Pinus tabulaeformis* is mycorrhizosphere under different ecological conditions (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27 (12): 5463—5469

[3] 张好强,唐明,张海涵. 土壤因子对柠条和沙棘根际 AM 真菌多样性及侵染状况的影响. *土壤学报*, 2009, 46 (4): 721—724. Zhang H Q, Tang M, Zhang H H. Influences of soil factors on diversity and colonization of AM fungi in the rhizosphere of *C. korshinskii* and *H. rhamnoides* (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2009, 46 (4): 721—724

[4] 封晔,唐明,陈辉,等. 黄土高原六道沟流域 8 种植物根际细菌与 AMF 群落多样性研究. *环境科学*, 2012, 33 (1): 314—322. Feng Y, Tang M, Chen H, et al. Community diversity of bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of eight plants in Liudaogou Watershed on the Loess Plateau China (In Chinese). *Environmental Science*, 2012, 33 (1): 314—322

[5] 刘振坤,田帅,唐明. 不同树龄刺槐林丛枝菌根真菌的空间分布及与根际土壤因子的关系. *林业科学*, 2013, 49 (8): 89—95. Liu Z K, Tian S, Tang M. Spatial distribution of arbuscular mycorrhizal fungi and its relationship with soil factors in the rhizosphere of *Robinia pseudoacacia* at different ages (In Chinese). *Scientia Silvae Sinicae*, 2013, 49 (8): 89—95

[6] 成毅,安韶山,马云飞. 宁南山区不同坡位土壤微生物生物量和酶活性的分布特征. *水土保持研究*, 2010, 17 (5): 148—153. Cheng Y, An S S, Ma Y F. Soil microbial biomass and enzymatic activities in the loess hilly area of Ningxia under different slope positions (In Chinese). *Research of Soil and Water Conservation*, 2010, 17 (5): 148—153

[7] 邹厚远,程积民. 陕北黄龙山植被保水作用研究. *林业科学*, 1982, 18 (1): 20—28. Zou H Y, Cheng J M. A study on the role of water conservation of the forest vegetation in Huanglong mountain, Shaanxi Province (In Chinese). *Scientia Silvae Sinicae*, 1982, 18 (1): 20—28

[8] 郭其强,张文辉,曹旭平. 基于模糊综合评判的森林群落稳定性评价体系模型构建——以黄龙山主要森林群落为例. *林业科学*, 2009, 45 (10): 19—24. Guo Q Q, Zhang W H, Cao X P. Establishment of an evaluation model of the forest community stability based on fuzzy synthetic evaluation: A case study of main forest communities in Huanglong Mountains (In Chinese). *Scientia Silvae Sinicae*, 2009, 45 (10): 19—24

[9] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 50—51. Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry (In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000: 50—51

[10] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986: 274—339. Guan S Y. Soil enzyme and the research methods (In Chinese). Beijing: Agriculture Press, 1986: 274—339

- [11] 王丽娜, 许修宏, 宛煜嵩, 等. 三种土壤微生物总 DNA 提取方法得多比较. 基因组学与应用生物学, 2009, 28(2): 331—334. Wang L N, Xu X H, Wan Y H, et al. Comparison of three extraction methods of soil microbial DNA (In Chinese). Genomics and Applied Biology, 2009, 28(2): 331—334
- [12] White T J, Bruns T D, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal DNA genes for phylogenetic//Innis M A, Sninsky D H, White T J. PCR protocols: A guide to methods and applications. New York: Academic Press, 1990: 315—322
- [13] Gardes M, Bruns T D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhiza and rusts. Molecular Ecology, 1993, 2(2): 113—118
- [14] Anderson I C, Campbell C D, Prosser J I. Diversity of fungi in organic soils under a moorland-Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) gradient. Environmental Microbiology, 2003, 5 (11): 1121—1132
- [15] Li Y X, Su Z C, Li X, et al. Assessing the effects of acetochlor on soil fungal communities by DGGE and clone library analysis. Ecotoxicology, 2010, 19(6): 1111—1116
- [16] 赵继红, 楼燕, 余志晟. 城市污水厂(A/O 工艺)微生物群落结构及其动态变化. 生态环境, 2008, 17(3): 898—902. Zhao J H, Lou Y, Yu Z S. The microbial community structure and dynamic changes in municipal wastewater treatment plants (A/O) (In Chinese). Ecology and Environment, 2008, 17(3): 898—902
- [17] 刘慧杰, 杨彩云, 田蕴, 等. 基于 PCR-DGGE 技术的红树林区微生物群落结构. 微生物学报, 2010, 50(7): 923—930. Liu H J, Yang C Y, Tian Y, et al. Analysis of microbial community structure in mangrove sediments by PCR-DGGE technique (In Chinese). Acta Microbiologica Sinica, 2010, 50(7): 923—930
- [18] Philippot L, Raaijmakers J M, Lemanceau P, et al. Going back to the roots: The microbial ecology of the rhizosphere. Nature Reviews Microbiology, 2013, 11(11): 789—799
- [19] Yao X H, Min H, Lü Z H, et al. Influence of acetamidiprid on soil enzymatic activities and respiration. European Journal of Soil Biology, 2006, 42(2): 120—126
- [20] 李晨华, 贾仲君, 唐立松, 等. 不同施肥模式对绿洲农田土壤微生物群落丰度与酶活性的影响. 土壤学报, 2012, 49(3): 567—574. Li C H, Jia Z J, Tang L S, et al. Effect of model of fertilization on microbial abundance and enzyme activity in oasis farmland soil (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2012, 49(3): 567—574
- [21] 薛立, 赖日石, 陈红跃, 等. 不同坡位造林地酶活性与土壤养分的关系. 土壤通报, 2002, 33(4): 278—280. Xue L, Lai R S, Chen H Y, et al. Soil characteristics of afforestation land in different slope positions (In Chinese). Chinese Journal of Soil Science, 2002, 33(4): 278—280
- [22] 张向前, 黄国勤, 卞新民, 等. 施氮肥与隔根对间作大豆农艺性状和根际微生物数量及酶活性的影响. 土壤学报, 2012, 49(4): 731—739. Zhang X Q, Huang G Q, Bian X M, et al. Effects of nitrogen fertilization and root separation on agronomic traits of intercropping soybean quantity of micro organisms and activity of enzymes in soybean rhizosphere (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2012, 49(4): 731—739
- [23] 郭胜利, 刘文兆, 史竹叶, 等. 半干旱区流域土壤养分分布特征及其与地形、植被的关系. 干旱地区农业研究, 2003, 21(4): 40—43. Guo S L, Liu W Z, Shi Z Y, et al. Soil nutrients distribution and its relation to landform and vegetation at small watershed in semiarid area (In Chinese). Agricultural Research in the Arid Areas, 2003, 21(4): 40—43
- [24] 邱莉萍, 张兴昌, 程积民. 坡向坡位和撂荒地对应云雾山草地土壤酶活性的影响. 草业学报, 2007, 16(1): 87—93. Qiu L P, Zhang X C, Cheng J M. Influence of slope direction, position and fallow measurement of soil enzymatic activities in grassland at Yunwu Mountain (In Chinese). Acta Prataculturae Sinica, 2007, 16(1): 87—93
- [25] 丁茜, 胡海波, 王人潮. 半干旱区土壤酶活性与其理化及微生物的关系. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2007, 31(2): 13—18. Ding H, Hu H B, Wang R C. The relationships between soil enzyme activity and soil physical chemical properties or microbial biomass in semi-arid area (In Chinese). Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition, 2007, 31(2): 13—18
- [26] 孟红娜, 王开运, 邹春静, 等. 复合群落土壤微生物和酶活性对大气 CO₂ 浓度和温度升高的响应. 广西植物, 2007, 27(6): 861—866. Meng H N, Wang K Y, Zou C J, et al. Responses of soil microbes and enzyme of compound community to elevated atmospheric CO₂ concentration and temperature (In Chinese). Guihaia, 2007, 27(6): 861—866
- [27] Diamantidis G, Effosse A, Potier P, et al. Purification and characterization of the first bacterial laccase in the rhizospheric bacterium *Azospirillum lipoferum*. Soil Biology & Biochemistry, 2000, 32(7): 919—927

SOIL ENZYME ACTIVITY AND FUNGAL COMMUNITY DIVERSITY IN RHIZOSPHERE
OF *PINUS TABULAEFORMIS* CARR. GROWING ON LOESS PLATEAU
—A CASE STUDY OF HUANGLONGSHAN FOREST FARM

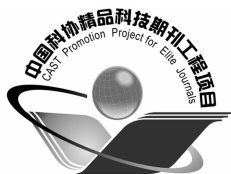
Chu Honglong Li Sha Tang Ming[†]

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract Chinese pine (*Pinus tabulaeformis* Carr.) is widely used as a pioneer tree species in the Loess Plateau of Northwest China for windbreak and sand-fixation, soil and water conservation thanks to its high tolerance of cold, drought and soil infertility and its liability of forming ectomycorrhiza. The formation of mycorrhiza has some important influences on soil enzyme activity and soil microbial community in the rhizosphere of the host plant. Rhizosphere refers to the interface between plant roots and soil, and is a complex and dynamic microecosystem developed in the process of plant growth. Study have shown that significant differences exist in rhizospheric soil microbial community between Chinese pines growing in different ecological condition. However, little has been so far reported on effects of the variations of soil properties and microbial distribution caused by the redistribution of soil properties and soil nutrients during the process of rainfall erosion on slope land on soil enzyme and mycorrhizal fungal community in the rhizosphere of pine trees. In order to understand soil enzyme activity and fungal community diversity in the rhizosphere of Chinese pine in the Huanglongshan Forest Farm, the nested PCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) method was used to determine fungal community diversity at different slope positions in the forest farm, and relationships of fungal community diversity with activities of urease, alkaline phosphatase, polyphenoloxidase and hydrogenperoxidase, were investigated in an attempt to provide a theoretical basis for revealing interactions between vegetation, soil microbes and soil enzyme activity. Results show that all the soil enzymes displayed a trend declining down the slope in activity, and from shady slope to sunny slope. As sampling sites along the roadside differed in environment from those in the forest so the enzyme activities therein varied in-between those in the sampling sites located in the forest. Analysis of the samples for Richness, Shannon-Wiener index, Simpson index and Evenness indicates that fungal communities in the pine rhizospheric soils were quite high in similarity, but varied somewhat in Richness (S), Shannon-Wiener index (H), Simpson index (D) and Evenness (E_H), suggesting that the fungi varied with slope position in species, biomass, diversity and functional diversity. The distribution of fungal diversity and the distribution of enzyme activity were quite similar in characteristic except for E_H , both displaying a trend of declining down the slope and from shady slope to sunny slope, and the distributions in the sampling sites alongside roads ranged in-between those in the sampling sites in the forests. However, the distribution of soil nutrients in slope land was quite different from that of pine rhizospheric microbial diversity and soil enzyme activity and characterized by losing from the slope and accumulating at the foot of the slope. The distribution of soil enzyme activity on slope is closely related to source and biological properties of soil enzymes, and microtopography and more likely to microecosphere of the rhizospheric microbes. Correlation analysis of fungal richness, soil enzyme activities, soil water content and soil pH shows that positive correlations existed between enzyme activities and fungal diversity ($p < 0.05$), except for that of hydrogenperoxidase; between fungal diversity and soil water content ($p < 0.05$); between enzyme activities and soil water content ($p < 0.05$), except for that of polyphenoloxidase; and between the enzymes per se in activity ($p < 0.05$), except for hydrogenperoxidase; but not between soil pH and enzyme activities ($p > 0.05$). All the findings indicate that in semi-arid regions, the higher the water content in the *P. tabulaeformis* rhizosphere, the higher the abundance of the fungi. Therefore, it can be concluded that soil water content is one of the major factors affecting soil enzyme activities and fungal community diversity in the soil.

Key words Loess Plateau; *Pinus tabulaeformis* Carr. ; Enzyme activities; Fungal community diversity; Nested PCR-DGGE

(责任编辑:卢 萍)



土壤学报

(Turang Xuebao)



第 52 卷 第 1 期 2015 年 1 月

目 次

综述与评论

农业土壤学研究:侯光炯学术思想形成之考察——纪念侯光炯先生诞辰 110 周年..... 申丽娟 丁恩俊 陈绍兰等(1)

土壤多样性研究趋势与未来挑战 任圆圆 张学雷(9)

土壤磷酸盐氧同位素分析方法和应用研究进展 张 晗 王佳妮 郭庆军等(19)

研究论文

土壤制图中多等级代表性采样与分层随机采样的对比研究 杨 琳 朱阿兴 张淑杰等(28)

河南省典型淋溶土土系划分研究 鞠 兵 吴克宁 李 玲等(38)

黄土坡面细沟侵蚀发育过程与模拟 吴淑芳 刘政鸿 霍云云等(48)

黄土丘陵区小流域土壤有效水空间变异及其季节性特征 高晓东 吴普特 张宝庆等(57)

科尔沁沙丘-草甸相间地区表土饱和和导水率的土壤传递函数研究 孙 丽 刘廷玺 段利民等(68)

砒砂岩风化物对土壤水分特征曲线及蒸发的影响 张 磊 齐瑞鹏 张应龙等(77)

稳定同位素²⁰²Hg 稀释技术测定土壤汞有效性——与化学提取方法比较 郑顺安 徐志宇 王 飞等(87)

土壤提取液中酰基高丝氨酸内酯的气相色谱-质谱检测方法优化 生弘杰 宋 洋 卞永荣等(95)

复合污染土壤中土霉素的吸附行为及其对土壤重金属解吸影响的研究 陈励科 马婷婷 潘 霞等(104)

污染区千金子和酢浆草根际土壤中 PAHs 结合态残留的梯度分布 王意泽 高彦征 彭安萍等(112)

土壤磷解吸特性对菜稻轮作田间渗漏水总磷浓度的影响 章明清 李 娟 孔庆波(120)

湖区小麦-玉米轮作模式下不同施肥措施调控氮磷养分流失研究 谭德水 江丽华 谭淑樱等(128)

鄱阳湖洲滩湿地土壤-水-植物系统中磷的静态迁移研究 徐 进 徐力刚 丁克强等(138)

菇菜套作对土壤微生物群落的影响 陈 敏 王军涛 冯有智等(145)

黄土高原油松根际土壤酶活性及真菌群落多样性研究——以黄龙山林场为例 褚洪龙 李 莎 唐 明(154)

硅介导番茄青枯病抗性的土壤定量蛋白质组学研究 陈玉婷 林威鹏 范雪滢等(162)

有机无机肥配施对红壤旱地花生生理特性、产量及品质的影响 许小伟 樊剑波 陈 晏等(174)

氮素富集对青藏高原高寒草甸土壤有机碳迁移和累积过程的影响 李林森 程淑兰 方华军等(183)

长期施肥下黑土活性有机质和碳库管理指数研究 何翠翠 王立刚 王迎春等(194)

火烧和保留采伐剩余物对土壤有机碳矿化的影响 吴君君 杨智杰 刘小飞等(203)

研究简报

碳氮稳定同位素检测能力的验证——2013 年实验室间比对分析结果的汇总 曹亚澄 韩 勇 唐昊冶等(212)

土壤厚度的划分标准与案例研究 易 晨 李德成 张甘霖等(220)

积盐条件下土壤酸化过程的特异性研究 王媛华 段增强 赵 宇等(228)

四川省不同区域水稻氮肥施用效果研究 张 智 王伟妮 李 昆等(234)

小叶锦鸡儿灌丛化对退化沙质草地土壤孔隙特征的影响 李宗超 胡 霞(242)

信息

《土壤学报》2013 年度优秀论文评选揭晓 (241)

封面图片:黄土坡面细沟形态发育过程(由吴淑芳提供)

CONTENTS

Reviews and Comments

Agricultural soil science research: Formation of Hou Kuangchun's academic thought—Celebrate 110th anniversary of Mr Hou Kuangchun's birth	Shen Lijuan, Ding Enjun, Chen Shaolan, et al. (8)
Study on pedodiversity: Status quo and future challenges	Ren Yuanyuan, Zhang Xuelei(17)
Advance in study on method for oxygen isotopic analysis of phosphate in soil and its application	Zhang Han, Wang Jiani, Guo Qingjun, et al. (26)

Research Articles

A comparative study of multi-grade representative sampling and stratified random sampling for soil mapping	Yang Lin, Zhu A-xing, Zhang Shujie, et al. (37)
Classification of Typical Argosols of Henan Province at soil series level of Chinese Soil Taxonomy	Ju Bing, Wu Kening, Li Ling, et al. (47)
Development of rill erosion on loess slope and its simulation	Wu Shufang, Liu Zhenghong, Huo Yunyun, et al. (55)
Spatial variability of available soil moisture and its seasonality in a small watershed in the hilly region of the Loess Plateau	Gao Xiaodong, Wu Pute, Zhang Baoqing, et al. (66)
Prediction of saturated hydraulic conductivity of surface soil in sand-dune-and-meadow interlaced region of Horqin with pedo-transfer functions method	Sun Li, Liu Tingxi, Duan Limin, et al. (75)
Effects of amendment of aeolian sandy soil and loess with soft sandstone on soil water retention curve and evaporation	Zhang Lei, Qi Ruipeng, Zhang Yinglong, et al. (85)
Comparison between stale isotope ²⁰² Hg dilution technique and chemical extraction in determining Hg availability in two typical soils of China	Zheng Shunan, Xu Zhiyu, Wang Fei, et al. (94)
Optimization of determination of N-acyl-homoserine lactones in soil solution with Gas-Chromatography-Mass Spectrometry	Sheng Hongjie, Song Yang, Bian Yongrong, et al. (102)
Sorption behavior of oxytetracycline in complex contaminated soil and its effects on desorption of heavy metals in the soil	Chen Like, Ma Tingting, Pan Xia, et al. (111)
Gradient distribution of bound-PAH residues in different layers of rhizosphere soils of moleplant and wood sorrel growing in polluted regions	Wang Yize, Gao Yanzheng, Peng Anping, et al. (118)
Soil P desorption characteristics and their effects on total P concentration in percolating water in fields under vegetable-rice rotation system	Zhang Mingqing, Li Juan, Kong Qingbo(127)
Effects of fertilization controlling nitrogen and phosphorus loss from farmland under wheat-maize rotation in Nansi Lake region	Tan Deshui, Jiang Lihua, Tan Shuying, et al. (137)
Static transfer of phosphorus in the soil-water-plant system of beach wetlands in Poyang Lake	Xu Jin, Xu Ligang, Ding Keqiang, et al. (144)
Changes in soil microbial community in response to tomato- <i>Agaricus bisporus</i> interplanting	Chen Min, Wang Juntao, Feng Youzhi, et al. (152)
Soil enzyme activity and fungal community diversity in rhizosphere of <i>Pinus tabulaeformis</i> Carr. growing on Loess Plateau— A case study of Huanglongshan forest farm	Chu Honglong, Li Sha, Tang Ming(161)
Soil quantitative proteomic analysis of silicon-mediated resistance of tomato (<i>Solanum lycopersicum</i>) to <i>Ralstonia solanacearum</i>	Chen Yuting, Lin Weipeng, Fan Xueying, et al. (172)
Effect of manure combined with chemical fertilizer application on yield, kernel quality and physiological characteristics of peanut to red soil in subtropical China	Xu Xiaowei, Fan Jianbo, Chen Yan, et al. (181)
Effects of nitrogen enrichment on transfer and accumulation of soil organic carbon in alpine meadows on the Qinghai-Tibetan Plateau	Li Linsen, Cheng Shulan, Fang Huajun, et al. (192)
Effect of long-term fertilization on labile organic matter in and carbon pool management index of black soil	He Cuicui, Wang Ligang, Wang Yingchun, et al. (202)
Effect of prescribed burning and reservation of logging residues on soil organic carbon mineralization	Wu Junjun, Yang Zhijie, Liu Xiaofei, et al. (210)

Research Notes

Testing of proficiency for measurement of carbon and nitrogen stable isotopes ...	Cao Yacheng, Han Yong, Tang Haoye, et al. (218)
Criteria for partition of soil thickness and case studies	Yi Chen, Li Decheng, Zhang Ganlin, et al. (227)
Specificity of soil acidification affected by salt accumulation	Wang Aihua, Duan Zengqiang, Zhao Yu, et al. (233)
Effects of nitrogen fertilization on rice in different regions of Sichuan Province	Zhang Zhi, Wang Weini, Li Kun, et al. (240)
Effects of shrub (<i>Caragana microphylla</i> Lam) encroachment on soil porosity of degraded sandy grassland	Li Zongchao, Hu Xia(248)

Cover Picture: Rill morphological development process on loess slope (by Wu Shufang)