

DOI: 10.11766/trxb202005110021

刘茗, 曹林桦, 刘彩霞, 梁辰飞, 秦华, 陈俊辉, 邵帅, 徐秋芳. 亚热带 4 种典型森林植被土壤固碳细菌群落结构及数量特征[J]. 土壤学报, 2021, 58 (4): 1028–1039.

LIU Ming, CAO Linhua, LIU Caixia, LIANG Chenfei, QIN Hua, CHEN Junhui, SHAO Shuai, XU Qiufang. Characterization of Population and Community Structure of Carbon-Sequestration Bacteria in Soils under Four Types of Forest Vegetations Typical of Subtropical Zone[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58 (4): 1028–1039.

亚热带 4 种典型森林植被土壤固碳细菌群落结构及数量特征*

刘茗^{1, 2}, 曹林桦^{1, 2}, 刘彩霞^{1, 2}, 梁辰飞^{1, 2}, 秦华^{1, 2}, 陈俊辉^{1, 2}, 邵帅^{1, 2}, 徐秋芳^{1, 2, 3†}

(1. 浙江省森林生态系统碳循环与固碳减排重点实验室, 浙江农林大学, 浙江临安 311300; 2. 浙江农林大学环境与资源学院, 浙江临安 311300; 3. 浙江省竹资源与高效利用协同创新中心, 浙江农林大学, 浙江临安 311300)

摘 要: 为研究亚热带不同森林植被类型土壤固碳微生物特征及其影响因子, 选取毛竹林 (Moso bamboo groves)、阔叶林 (Broad-leaved forest)、杉木林 (Chinese fir forest) 和马尾松林 (Masson pine forest) 等 4 种森林植被为研究对象, 以 *cbbL* 为固碳细菌指示基因, 利用荧光定量 PCR (real-time PCR) 和 MiSeq 高通量测序为研究手段。结果表明, 4 种林分土壤的细菌 16S rRNA 基因和固碳细菌 *cbbL* 基因丰度范围分别是 $5.40 \times 10^{10} \sim 2.81 \times 10^{11}$ copies·g⁻¹ 干土和 $4.55 \times 10^8 \sim 3.53 \times 10^9$ copies·g⁻¹ 干土, 其中毛竹林显著高于其它三种林分 ($P < 0.05$); 基因丰度显著关联的环境因子是阔叶林土壤的有效磷、不同土层的 pH ($P < 0.05$)。杉木林土壤固碳细菌多样性显著低于其他 3 种林分 ($P < 0.05$), 其亚表层土壤高于表层 ($P < 0.05$); 双因子分析表明, 林型、土层之间土壤固碳细菌多样性均存在显著或极显著差异。所有土壤具有相似的优势属但相对丰度不同, 其中毛竹林和杉木林土壤的甲基化石油杆菌属 (*Methylibium*) 和诺卡菌属 (*Nocardia*) 占比明显高于阔叶林和马尾松林。冗余分析结果显示, 不同林分土壤 pH、土壤有机碳、有效磷、全氮差异是影响土壤固碳细菌群落特征形成的主要因素。综上, 4 种植被对土壤固碳微生物数量及群落结构多样性影响明显, 从土壤理化性质、固碳细菌基因丰度、多样性以及结构特征等多维度结果证明, 毛竹林对土壤肥力以及固碳细菌影响效果最好, 固碳微生物对毛竹林土壤有机质积累贡献大于阔叶林, 定量结论有待进一步研究。

关键词: 固碳细菌; *cbbL* 基因; 亚热带森林; 实时荧光定量 PCR; 高通量测序

中图分类号: S714.3 文献标志码: A

Characterization of Population and Community Structure of Carbon-Sequestration Bacteria in Soils under Four Types of Forest Vegetations Typical of Subtropical Zone

* 浙江省自然科学基金委 (LZ16C160002) 资助 Supported by the Key Projects of Zhejiang Natural Science Foundation (No.LZ16C160002)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: xuqiufang@zafu.edu.cn

作者简介: 刘茗 (1992—), 女, 安徽宿州人, 硕士研究生, 主要从事土壤生物与生物化学研究。E-mail: liumingsunrise@icloud.com

收稿日期: 2020-05-11; 收到修改稿日期: 2020-07-16; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2020-09-01

LIU Ming^{1,2}, CAO Linhua^{1,2}, LIU Caixia^{1,2}, LIANG Chenfei^{1,2}, QIN Hua^{1,2}, CHEN Junhui^{1,2}, SHAO Shuai^{1,2}, XU Qiufang^{1,2,3†}

(1. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Carbon Cycling in Forest Ecosystems and Carbon sequestration, Lin'an, Zhejiang 311300, China; 2. School of Environmental and Resources, Zhejiang Agriculture and Forestry University, Lin'an, Zhejiang 311300, China; 3. Zhejiang Provincial Collaborative Innovation Center for High-Efficiency Utilization of Bamboo Resources, Zhejiang Agriculture and Forestry University, Lin'an, Zhejiang 311300, China)

Abstract: 【Objective】 To alleviate the global climate change is one of the most important environmental challenges facing mankind. Autotrophic microorganisms, especially those in forest ecosystems, have been reported to have a strong ability to adapt to environmental changes and a high potential to sequester carbon. However, how their carbon-sequestering effects vary with type of forests vegetation remains unclear. To explore this complex relationship, investigations were made of populations and community structures of soil carbon-sequestering bacteria in the soils of four typical subtropical forests. 【Method】 Soil samples were collected from the surface (0-20 cm) and subsurface (20-40 cm) soil layers in the four types of forests, that is Moso bamboo, Broad-leaved trees, Chinese fir and Masson pine for analysis of *cbbL* as indicator gene with the aid of quantitative PCR and MiSeq high-throughput sequencing technology. 【Result】 Abundance of the bacteria with 16S rRNA genes and those with *cbbL* genes varied in the range of 5.40×10^{10} – 2.81×10^{11} copies·g⁻¹ dry soil and of 4.55×10^8 to 3.53×10^9 copies·g⁻¹ dry soil, respectively, in the four types of forest soils, and was the highest in the soil under bamboo groves ($P < 0.05$); among soil physico-chemical properties, soil available P and soil pH was significantly related to the abundance of *cbbL* genes in the two soil layers under the broad-leaved forest ($P < 0.05$). The soil under the Chinese fir forest was significantly lower than the others, and the subsurface soil was higher than the surface soil in diversity of carbon-sequestering bacteria ($P < 0.05$). Double factor variance analysis shows that the diversity of soil carbon-sequestering bacteria varied significantly or ultra-significantly with forest type and soil layer. All the soils had similar dominant species of *cbbL*-carrying bacteria, which, however, differed in relative abundance between the four types of vegetations. The soil of the Moso bamboo groves and the Chinese fir forest was significantly higher than that of the Broad-leaved forest and Masson pine forest in proportion of *Methylibium* and *Nocardia*. Redundancy analysis (RDA) shows that soil pH, organic carbon, available P and total N were the main factors affecting the formation of community structure of the soil carbon-sequestering bacteria in the soils. 【Conclusion】 To sum up, all the findings in this study indicate that population and community structure diversity of the soil carbonsequestering microbes varied with type of the vegetation. Comparison of the four forest soils in soil physico-chemical property, and genetic abundance, diversity and community structure of the carbon-sequestering bacteria shows Moso bamboo groves are the best type of vegetation benefitting soil fertility and carbon-sequestering bacteria. Contribution of the bacteria to accumulation of organic matter was higher in the soil under bamboo groves than under broad-leaved forests, but as to how much, further investigations should be done.

Key words: Carbon-sequestering bacteria; *cbbL* gene; Subtropical forests; Real-time quantitative PCR; High-throughput sequencing

工业飞速发展以及人类活动加剧了全球性温室效应^[1], CO₂ 是影响“温室效应”最主要的气体,降低大气 CO₂ 浓度有利于缓解温室效应。土壤微生物参与的土壤碳循环与温室气体排放密切相关^[2],一方面土壤微生物分解有机质和自身呼吸释放 CO₂,另一方面,自养微生物生长繁殖固定 CO₂^[3]。通过植物或自养微生物将 CO₂ 转化成有机化合物的生物固碳过程、提高生态系统的碳固定和储存能力,是减少大气 CO₂ 浓度的有效途径^[4-5]。研究证明,自养微生物同

化 CO₂ 是全球生态系统碳循环中的关键微生物过程,对调节大气中二氧化碳浓度具有极重要作用^[6],全球陆地土壤的自养微生物每年可捕获大气 0.5%~4.1% 的 CO₂、总量达 0.6~4.9 Gt C^[7]。土壤碳同化量主要来自于土壤自养微生物固定^[8],自养微生物广泛分布于不同的生态系统中,具有很强的环境适应能力,可以在多种环境条件下如火山口^[9]、海洋深处^[10]、极地湖泊^[11]等植物无法生存的生境中参与 CO₂ 的同化固定。迄今为止发现的 5 条固碳途径中卡尔文循环是

自养微生物固定大气 CO₂ 的主要途径, 其中 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶 (RubisCO) 是其关键酶^[12], 研究者们将 RubisCO I 大亚基的编码基因 *cbbL* 基因作为固碳微生物标记物, 对不同生态系统土壤固碳微生物开展了大量研究, 固碳细菌数量及多样性受土地利用方式、海拔梯度、植被类型等影响^[13-16]。

综上所述, 从整个生物圈的物质、能量流动来看, 研究自养微生物的固碳功能具有重要意义, 但影响固碳微生物因素却较为复杂。森林是陆地重要的碳汇, 全球森林生态系统存储碳量高达 650 Gt, 其中地下土壤占 45%^[17]。中国亚热带森林面积大 (2.5×10^8 hm²)、植被类型多样, 在全球森林碳汇中发挥着独特作用^[18]。因凋落物质量、根系分泌物和养分吸收的差异^[19], 地上植被种类和多样性的变化能直接或间接影响碳在地下生态系统的分配, 并调节影响参与这些过程的土壤微生物^[20]。土壤微生物最常利用的碳源是碳水化合物和羧酸, 其次是氨基酸, 酚酸和聚合物, 而胺的利用率最低, 土壤微生物群落利用各种碳源的数量及其比例会因植被类型而不同; 森林土壤中细菌群落结构与功能多样性与地上植被组成密切相关^[21], 而土壤固碳细菌占总细菌的 0.1%~10%不等^[22-23], 群落结构和丰度也会受植被类型影响, 然而, 森林植被类型对土壤固碳微生物影响研究却鲜见报道。

本研究以植物多样性丰富的亚热带不同森林植被类型为对象, 选取亚热带典型森林植被毛竹林 (Moso bamboo groves)、阔叶林 (Broad-leaved forest)、杉木林 (Chinese fir forest) 和马尾松林 (Masson pine forest) 等 4 种林分, 以卡尔文循环功能基因 *cbbL* 为标记基因, 利用 qPCR 和 Illumina MiSeq 高通量测序技术, 探明 4 种林分土壤固碳细菌丰度、多样性和群落结构差异, 为揭示亚热带 4 种林分对土壤固碳细菌影响机理提供依据。

1 材料与方 法

1.1 研究区概况

研究样地位于浙江省杭州市临安区玲珑山 (30°14'N, 119°42'E), 属中亚热带季风气候, 热量丰富, 雨量丰沛, 光照充足, 四季分明, 具有春多雨、夏湿热、秋气爽、冬干冷的气候特征。多年平均降雨量 1 628.6 mm, 降水日 158 d, 全年日照时数

1 847 h, 无霜期 237 d, 全年平均气温 16.4 °C。土壤为发育于凝灰岩的黄红壤, 具有典型的中亚热带森林生态系统和森林景观, 植被主要包括毛竹、阔叶、杉木、马尾松等典型亚热带植被。其中, 阔叶林、杉木林和马尾松林下植被均包含丛生灌木, 有蕨类植物, 毛竹林下植被很少, 仅有稀疏的草本植物。

1.2 样品采集与处理

于 2017 年 10 月按照生态控制原则, 选择同一成土母质的毛竹林 (MB)、阔叶林 (BL)、杉木林 (CF) 和马尾松林 (MP)。分别于各个林分的下坡位、中坡位、上坡位确定采样区, 在采样区周围 10 m² 范围内按照三角形确定 3 个取样点, 分别采集表层 (0~20 cm) 及亚表层 (20~40 cm) 土壤混匀得到一个土样, 每种林分选择 4 个重复, 4 种林分共得 32 个 (4×4×2) 土样。新鲜土样去除植物残体和大的石头过筛 (2 mm) 后装入密封袋, 将样品放入冰盒带回实验室。样品共分为 2 份, 1 份测定含水率后鲜土提取土壤细菌总 DNA, 并冷冻干燥存放于 -70 °C 冰箱, 用于其他分子生物学分析; 另一份于室内自然风干, 充分研磨过筛后用于土壤基本理化性质的测定。

1.3 分析方法

土壤理化性质分析: 分析方法参考文献[24]。土壤 pH 采用酸度计测定, 水土比为 1 (m/v); 土壤有机碳 (SOC) 及全氮 (TN) 使用元素分析仪 (ELEMENTAR Vario El Cube) 测定; 土壤碱解氮 (AN) 含量采用碱解扩散法测定; 有效磷 (AP) 含量采用盐酸-氟化铵溶液浸提, 钼锑抗比色法测定; 速效钾 (AK) 含量采用醋酸铵提取, 火焰光度计测定。

土壤总 DNA 提取: 采用 Power Soil DNA Isolation Kit 试剂盒提取土壤总 DNA。测定鲜土的含水率后, 换算成 0.35 g 干土重, 称取相应的新鲜土样, 按试剂盒说明书进行提取。DNA 提取成功后经 1% (m/v) 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 片段大小, 并用微量分光光度计检测其浓度和纯度。提取后的 DNA 样品保存于 -40 °C 冰箱。

实时荧光定量 PCR (Real-time Quantitative PCR, qPCR), 测定固碳功能菌 *cbbL* 基因拷贝数引物对为 K2f (ACCA YCAAGCCSAAGCTSGG), V2r (GCCTTCSAGCTTGCCSACCRC), 得到 492 bp-495

bp 的扩增产物^[25]。测定土壤细菌 16S rRNA 基因拷贝数通用引物对为 338F/518R, 16S-F (AGAGT TTGATCMTGGCTCAG), 16S-R (GCTGCCTCCCGT AGGAGT)^[26]。使用 CFX96™ Real-Time System (Bio-Rad, USA) 仪器对 *cbbl* 基因进行荧光定量 PCR 扩增。反应体系及程序详见文献[25-26]。

高通量测序：采用同上 K2f/V2r 引物对，对土壤 DNA 进行扩增，将 PCR 产物纯化后送至上海派森诺公司，采用 Illumina MiSeq 平台对群落 DNA 片段进行双端 (Paired-end) 测序。下机数据选择 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 数据库的氨基酸序列进行对比，进行物种注释得到分类鉴定结果。

1.4 数据处理

利用 Microsoft Excel 2010 软件对数据进行初处理，采用 SPSS 21.0 软件对数据进行和双因素方差分析 (Two-Way ANOVA) 和最小显著差数 (LSD) 法进行显著性和多重比较 ($\alpha=0.05$)，采用皮尔逊

(Pearson) 进行相关性分析。根据 OTU 表计算 α 多样性指数。利用 Origin 软件绘制基因丰度图和群落结构丰度图。使用 Canoco 5.0 软件对固碳细菌群落结构与环境因子的相关性进行冗余分析 (Redundancy analysis, RDA)。

2 结 果

2.1 不同林分土壤理化性质

4 种林分虽然发育于同一母岩，但土壤理化性质却存在差异 (表 1)。毛竹林和阔叶林表层土壤各项指标总体均较高，而杉木林和马尾松林土壤总体较低，尤其是杉木林土壤除 pH 和碱解氮外的其他指标均为最低。亚表层土壤 2 组林分之间的差异不如表层明显，而杉木林土壤的各项指标 (pH 除外) 仍然为最低。表层土壤碳氮比总体高于亚表层，但没有显著差异，其中毛竹林两层土壤碳氮比均为最低。双因素检验结果表明，林分对 5 个土壤理化性

表 1 不同林分土壤理化性质 (均值±标准差)

Table 1 Soil physico-chemical properties relative to type of forest (mean ± SD)

土层 Layer /cm	林分 Forest stand	pH	有机碳 Organic carbon / (g·kg ⁻¹)	全氮 Total N / (g·kg ⁻¹)	碳氮比 C/N	碱解氮 Alkalytic N / (mg·kg ⁻¹)	有效磷 Available P / (mg·kg ⁻¹)	速效钾 Available K / (mg·kg ⁻¹)
0~20	MB	4.77±0.15aA	17.68±2.87aA	1.55±0.17aA	11.57±1.87aA	34.0±4.42abA	6.47±1.31aA	102±22.0aA
	BL	4.38±0.06cA	23.90±4.21aA	1.95±0.37aA	12.16±1.59aA	40.6±4.39aA	6.05±0.72aA	97.0±12.2aA
	CF	4.60±0.14abA	14.43±2.23bA	1.30±0.14bA	11.19±2.20aA	27.0±7.68bcA	2.15±0.98bA	76.0±5.35aA
	MP	4.42±0.11bcA	15.05±2.86bA	1.25±0.13bA	12.23±2.48aA	25.4±1.75cA	4.45±2.34aA	82.0±20.3aA
20~40	MB	4.74±0.09aA	13.48±2.82aA	1.48±0.22aA	9.12±0.81aA	25.7±4.90aA	4.71±0.65bB	76.3±12.8aA
	BL	4.42±0.10bA	12.60±3.60aB	1.20±0.36aA	11.3±4.32aA	25.9±3.86aB	4.13±0.80abB	83.3±8.26aA
	CF	4.67±0.06aA	11.93±5.49aA	1.05±0.37aA	10.6±1.42aA	23.2±2.17aA	1.37±0.66cB	74.5±7.72aA
	MP	4.37±0.13bA	12.93±2.45aA	1.18±0.29aA	11.0±1.57aA	20.7±2.58aB	3.12±1.28bA	83.5±13.5aA
F 值 F value								
林分 Forest stand		21.3***	3.33*	4.46*	0.64	8.99***	1.97	15.9**
土层 Layer		0.05	16.9***	8.84**	2.60	26.3***	4.08	11.4**
交互 Interaction		0.59	3.04*	2.72	0.27	2.62	1.63	0.35

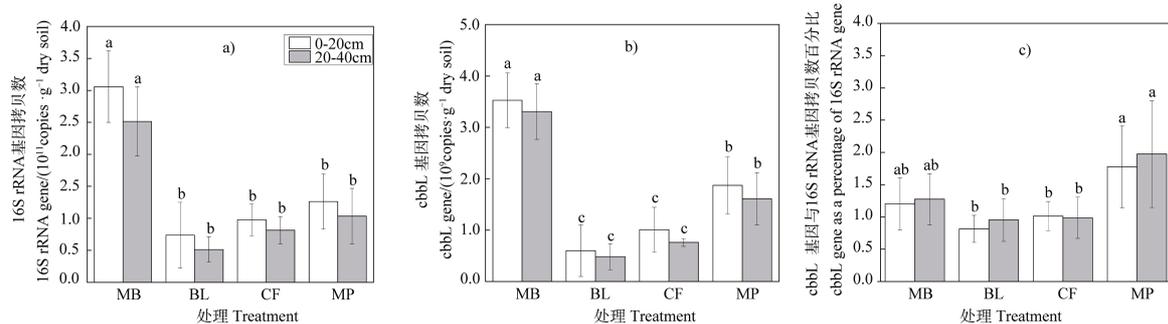
注：MB：毛竹，BL：阔叶林，CF：杉木林，MP：马尾松林；*， $P<0.05$ ，**， $P<0.01$ ，***， $P<0.001$ ；同列小写字母表示不同林分之间显著性差异，大写字母表示不同土层之间显著性差异 ($P<0.05$)；以林分为单位分析时， $n=4$ ，土层为单位分析时 $n=16$ 。下同。Note: MB: Moso bamboo grove; BL: Broad-leaved forest; CF: Chinese fir forest; PM: Masson pine forest; Different lowercase letters indicate significant differences between stands, and different uppercase letters indicate significant differences between soil layers, the significant difference at 0.05 level analysis of stands, and the number of samples is 4 for analysis of stands, the number of samples is 16 for analysis of soil layers. The same below.

质均产生显著影响 ($P<0.05$), 而对碳氮比和有效磷则无影响; 土层对土壤有机碳、全氮、碱解氮、速效钾具有显著影响 ($P<0.05$); 林分和土层二者交互作用仅土壤有机质达到显著影响 ($P<0.05$), 说明两者对土壤性质的影响可能不同步、甚至相反。

2.2 不同林分土壤细菌 16S rRNA 基因与固碳细菌 *cbbL* 基因丰度特征

采用荧光实时定量 PCR 分析, 4 种林分土壤细菌 16S rRNA 基因和固碳细菌 *cbbL* 基因丰度结果表明(图 1)细菌丰度在 $5.40\times 10^{10}\sim 2.81\times 10^{11}$ copies·g⁻¹

干土之间(图 1A), 固碳细菌丰度在 $4.55\times 10^8\sim 3.53\times 10^9$ copies·g⁻¹ 干土之间(图 1B)。毛竹林土壤 2 种基因丰度在表层、亚表层土壤中均位于四种林分之首, 且显著高于其他三种林分 ($P<0.05$), 而其他三种林分细菌数量无显著差异, 固碳细菌马尾松林显著高于其他两种林分 ($P<0.05$)。4 种林分土壤 *cbbL* 与 16S rRNA 基因丰度的比值结果为亚表层高于表层(图 1C); 两层土壤比值最高的是马尾松林, 其次为毛竹林, 马尾松林显著高于阔叶林和杉木林 ($P<0.05$)。



注: 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。Note: Different letters in the same column meant significant difference at 0.05 level.

图 1 不同林分土壤细菌 16S rRNA (A)、固碳细菌 *cbbL* 基因 (B) 丰度及其比值 (C)

Fig. 1 Abundance of 16S rRNA (A) and *cbbL* genes (B) and their ratio relative to forest stand (C)

2.3 不同林分土壤固碳细菌基因丰度与理化因子的关系

为揭示土壤理化性质对不同林分土壤细菌 16S rRNA 和固碳细菌 *cbbL* 基因丰度的影响, 分别以林分和土层为单位, 将基因丰度与对应土壤理化性质进行相关性分析, 结果表明, 细菌和固碳细菌丰度与理化性质相关性总体较差(表 2)。在不同林分中, 只有阔叶林土壤的 2 种基因丰度与有效磷呈显著正相关 ($P<0.05$), 马尾松林土壤的 *cbbL* 基因丰度与 pH、速效钾呈显著正相关 ($P<0.05$); 在不同土层中, 表层及亚表层土壤的两种基因丰度均与 pH 呈显著正相关 ($P<0.05$)。

2.4 不同林分土壤固碳微生物 α 多样性比较

对 4 种林分土壤固碳细菌进行高通量测序, 毛竹林、阔叶林、杉木林和马尾松林表层土壤分别测得 36 598、33 599、35 093 和 35 129 条序列, 亚表层土壤测得 32 552、33 783、30 381 和 38 502 条有效序列, 将测序结果在 97% 相似度下进行聚类得到 OTU 的代表序列, 并与 NCBI 数据库比对进行物种注释, 置信度阈值设为 0.8, 认为测序深度已经基本

覆盖到样品中所有的物种。经比对鉴定得到 4 个门、6 个纲、12 个目、20 个科、35 个属、40 个种的土壤固碳细菌群落信息。

基于 OTU 的 α 多样性指数可反应土壤固碳细菌群落结构的多样性。从表层土壤固碳细菌 α 多样性 4 个指标看(表 3), 杉木林所有指标最低, 且均显著低于其他 3 种林分 ($P<0.05$), 说明杉木林土壤固碳细菌的物种丰富度及多样性极差。亚表层土壤不同林分之间仅香农指数存在差异, 其中马尾松林最高、杉木林最低, 两者之间存在显著差异 ($P<0.05$)。马尾松林的所有指标值均为最高, 说明马尾松林亚表层土壤固碳细菌的物种丰富度及多样性最高。同一林分不同土层之间的差异结果表明, 杉木林土壤亚表层的所有指标都显著大于表层 ($P<0.05$), 双因素检验结果表明, 林分及土层对 4 种 α 多样性指标均达到了显著影响 ($P<0.05$), 而两因子交互作用仅对香农指数与辛普森指数有显著影响 ($P<0.05$), 且数值小于各单因子, 说明两个因子对土壤固碳细菌 α 多样性影响不同步、甚至相反。

表 2 土壤细菌 16S rRNA 和固碳细菌 *cbbL* 基因功能基因与环境参数之间的皮尔逊相关系数Table 2 Pearson's correlations (r) of 16S rRNA and *cbbL* genes abundance with environmental parameters

林分 Forest stand	功能基因 Functional gene	pH	SOC	TN	C: N	AN	AP	AK
MB	16S rRNA	0.673	0.142	-0.047	0.269	0.394	0.498	0.423
	<i>cbbL</i>	0.391	0.538	0.448	0.407	0.427	0.373	0.032
BL	16S rRNA	-0.406	0.333	0.161	0.250	0.462	0.826*	0.017
	<i>cbbL</i>	-0.253	0.154	-0.183	0.479	0.315	0.767*	-0.291
CF	16S rRNA	0.252	0.123	0.209	-0.042	-0.236	-0.323	0.042
	<i>cbbL</i>	0.614	-0.272	-0.054	-0.426	-0.484	0.022	-0.395
MP	16S rRNA	0.167	-0.328	-0.656	0.332	-0.064	0.0439	0.519
	<i>cbbL</i>	0.768*	-0.098	-0.524	0.539	0.181	0.587	0.744*
土层 Layer/cm	功能基因 Functional gene	pH	SOC	TN	C: N	AN	AP	AK
0~20	16S rRNA	0.720**	-0.227	-0.173	-0.098	-0.028	0.362	0.439
	<i>cbbL</i>	0.683**	-0.221	-0.256	0.073	-0.158	0.368	0.394
20~40	16S rRNA	0.525*	0.126	0.281	-0.146	0.224	-0.003	0.444
	<i>cbbL</i>	0.514*	0.196	0.369	-0.172	0.321	0.210	0.378

注: 以林分为单位分析时, $n=4$, 土层为单位分析时 $n=16$ 。Note: $n=4$ for analysis of stands, $n=16$ for analysis of soil layers.

表 3 不同林分土壤固碳细菌 *cbbL* 基因多样性指数统计表 (均值±标准差)Table 3 *CbbL* gene diversity of carbon sequestering bacteria relative to forest stand (mean ± SD)

土层 Layer/cm	林分 Forest stand	辛普森 Simpson	Chao1	ACE	香农 Shannon
0~20	MB	0.97±0.01 aB	1 345 ±171 aA	13 64±140 aA	8.11±0.10 aA
	BL	0.97±0.00 aA	1 366±10.2 aB	1 472±17.0 aB	8.03±0.23 aA
	CF	0.63±0.07 bB	872.4±268 bB	961.2±294 bB	4.21±0.88 bB
	MP	0.98±0.02 aA	1 302±129 aA	1 379±168 aA	8.47±0.54 aB
20~40	MB	0.99±0.00 aA	1 638±305 aA	1 737±323aA	8.73±0.54 aA
	BL	0.96±0.01 aA	1 522±60.2 aA	1 613±24.5 aA	7.94±0.11 abA
	CF	0.89±0.10 aA	1 443±323 aA	1 555±353 aA	7.13±1.51 bA
	MP	0.99±0.00 aA	1 782±421 aA	1 965±503 aA	9.04±0.34 aA
F 值 F value					
林分 Forest stand		51.4***	5.27**	4.54*	39.7***
土层 Layer		26.5***	27.9***	28.5***	25.8***
交互 Interaction		23.6***	1.83	1.88	11.8***

2.5 不同林分土壤固碳细菌群落相似性比较

为分析 4 种不同林分土壤固碳细菌群落组成的差异, 以固碳细菌 OTU 种类数为依据, 对其分组构

建韦恩图分析不同处理之间的“相似关系”(图 2)。图 2A 结果表明, 天然林(阔叶林和马尾松林)土壤固碳细菌明显高于人工林(毛竹林和杉木林), 但

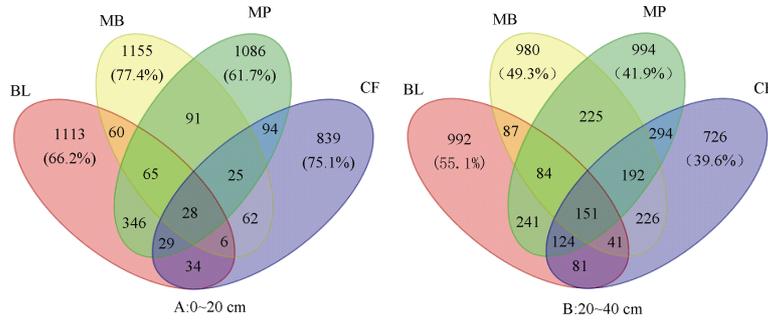


图 2 不同林分土壤固碳细菌 OTUs 韦恩图
Fig. 2 OTUs Venn of soil carbon sequestrating bacteria relative to forest stand

毛竹林土壤固碳细菌群落组成特异性强,与其他几种林分的差异最大;4 种林分在表层土壤中共有 OTU 只有 28 个,占固碳细菌总 OTU 比例仅为 0.5%,说明不同林分之间固碳细菌结构差异较大。亚表层土壤固碳细菌特有 OTU 数量明显低于表层土壤,不同林分之间的差异没有表层明显。这一结果与 4 种林分亚表层高达 151 个共有 OTU、以及高占比(2.8%)结果吻合。综上所述,杉木林表层和亚表层土壤固碳细菌的物种数最低,亚表层土壤固碳细菌特有 OTU 数量大于表层,但表层土壤特有 OTU 数量及其占比则明显高于亚表层,尤其是毛竹林和杉木林土壤,说明不同林分表层土壤固碳细菌特异性强。

2.6 不同林分土壤固碳细菌群落物种组成

在属分类水平上(图 3),表层土壤中的毛竹林

和杉木林,分属于变形菌门(Proteobacteria)的甲基化石油杆菌属(*Methylibium*)占比分别高达 55.1%、70.85%,为绝对优势菌属;分属于放线菌门(Actinobacteria)的诺卡菌属(*Nocardia*)为次要优势菌属,分别占 21.6%、7.75%;与之相反,阔叶林和马尾松林的诺卡菌属比例高于毛竹林和杉木林,分别占 29.65%、26.25%,而甲基化石油杆菌属分别占 28.15%、5.15%;变形菌门的红长命菌属(*Rubrivivax*)占比仅次于诺卡菌属也是优势菌属。在亚表层土壤中,毛竹林土壤诺卡菌属为优势菌属(33.80%),其次为放线菌门的假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)(19.86%);杉木林土壤甲基化石油杆菌属仍属优势菌群(38.6%)、其次诺卡菌属(20.1%);阔叶林与马尾松林的诺卡菌属分别占 28.86%、28.26%,甲基化

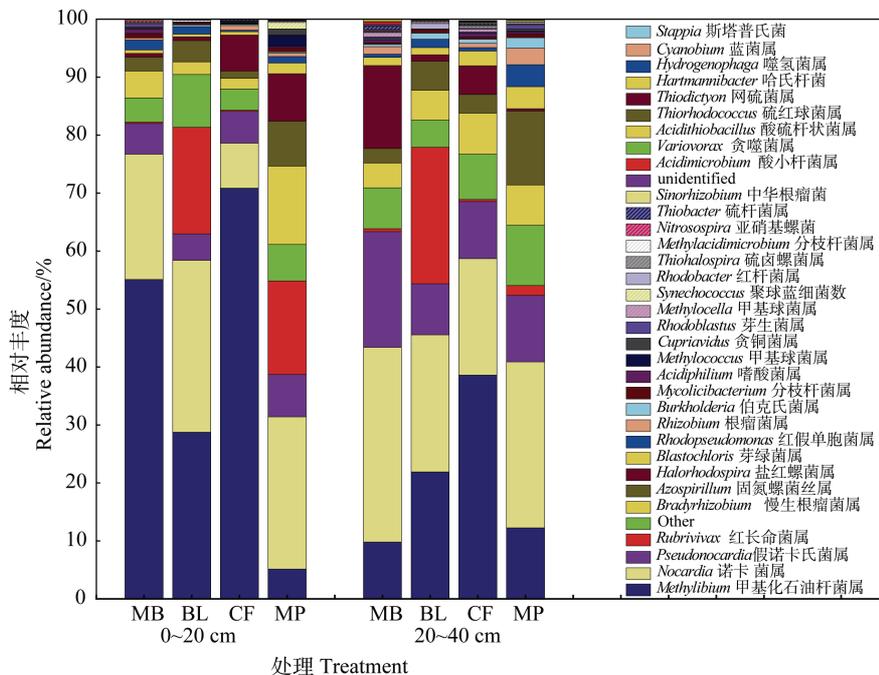


图 3 不同林分土壤固碳细菌在属水平上的群落结构组成成分

Fig. 3 Composition of the soil carbon sequestrating bacteria community structure at genus level relative to forest stand

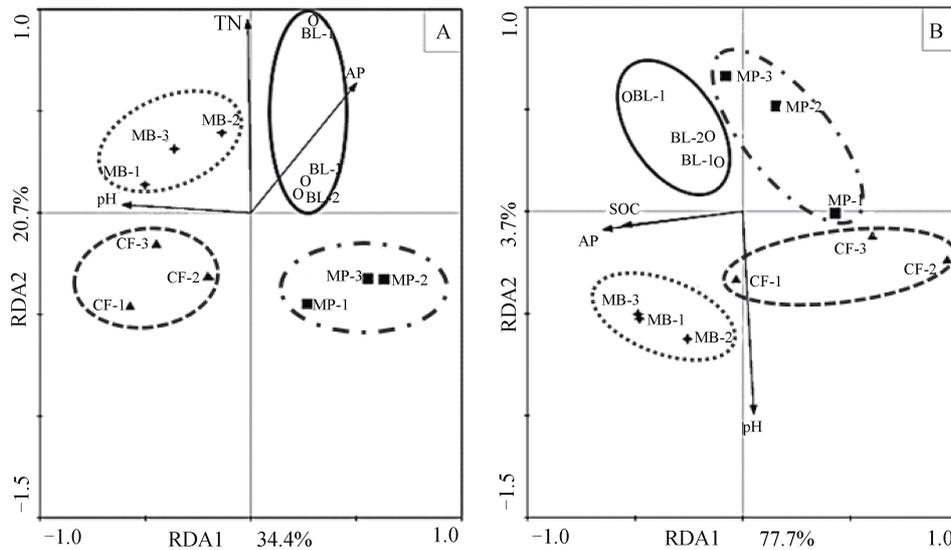
石油杆菌占 28.76%、6.16%; 4 种林分土壤的假诺卡氏菌属均高于表层土壤。结果进一步表明土壤固碳细菌在人工林与天然林上具有较大差异。

2.7 固碳细菌群落结构与环境因子的冗余分析

为分析 4 种林分土壤理化因子对土壤固碳细菌群落结构的影响, 选取表层及亚表层土壤具有代表性的优势菌属 (聚类大于 1%) 为物种变量、土壤理化性质为环境变量进行冗余分析, 根据蒙特卡洛检验, 选取影响较大的环境因子分析。结果表明, 表层土壤第一排序轴和第二排序轴分别解释了 34.4% 和 20.7% 的变异 (图 4A), 4 种林分样品分散于坐标的 4 个象限中, 说明 4 种林分土壤固碳细菌的结构差异明显, 分布在第一排序轴左侧的毛竹林和杉木林与右侧的

阔叶林和马尾松林之间差异明显。第一排序轴与土壤有效磷呈正相关, 与 pH 和全氮呈负相关; 第二排序轴与 pH、全氮、有效磷呈正相关。土壤 pH ($F=4.152$, $P=0.048$)、全氮 ($F=9.084$, $P=0.01$) 有效磷 ($F=7.317$, $P=0.01$) 对土壤固碳细菌属水平达到显著影响。

根据蒙特卡洛检验, 选取亚表层土壤中 (图 4B) 影响较大的 3 个环境因子分析, 结果表明, 第一排序轴和第二排序轴分别解释了 77.7% 和 3.7% 的变异。第一排序轴上的群落结构与 pH 呈正相关, 与有机碳、有效磷呈负相关; 第二排序轴与 pH 呈负相关, 与有机碳、有效磷呈负相关; 土壤 pH ($F=2.574$, $P=0.044$) 达到显著水平, 但有效磷 ($F=2.558$, $P=0.0560$)、有机碳 ($F=1.882$, $P=0.154$) 未达到显著水平。



注: AP: 有效磷; TN: 全氮; SOC: 有机碳。Note: AP: Available P; TN: Tottle N; SOC: Soil organic carbon.

图 4 土壤固碳细菌在属水平上与环境因子的冗余分析

Fig. 4 Redundancy analysis of soil carbon sequestrating bacteria at the genus level with environmental parameters relative to forest stand

3 讨论

3.1 不同林分土壤细菌与固碳细菌基因丰度差异及其原因分析

通过 qPCR 分析亚热带典型森林植被土壤微生物 16S rRNA 基因与 *cbbL* 基因拷贝数得知, 亚热带森林土壤中存在相当数量的土壤细菌与固碳细菌, 对土壤碳汇贡献较大。本研究中 4 种林分土壤 16S rRNA 基因与 *cbbL* 基因数量普遍高于其他学者在湿地^[15]、稻田^[22]、旱地^[23]、盐沼地^[27]的研究结果。一般而言, 土壤有机质与细菌的数量呈正相关^[28], 森

林中凋落物的分解、积累与补充速率远高于农田生态系统, 森林土壤丰富的有机质为细菌 (包括固碳细菌) 的生长繁殖提供能量和养分。土壤固碳细菌是一类利用 CO_2 而非有机碳为碳源的自养微生物^[29], 土壤固碳细菌以兼性自养微生物为主^[30], 说明其还可同时利用有机碳作为碳源, 有机质分解产生的 CO_2 亦可为其提供底物。4 种林分土壤固碳细菌占总细菌的比值 (0.91%~2.24%) 与相同气候带稻田^[22]、旱地^[23]相差不大, 说明土地利用方式、生态类型、气候区域等对土壤总细菌和固碳细菌丰度影响是同步的。

不同生态系统因为土壤环境因子的巨大差异导

致土壤固碳细菌丰度差异^[22, 27], 本研究 4 种林分土壤发育于同一母质, 土壤基础理化性质一致, 但由于不同植物对养分的选择性吸收、根系分泌物与凋落物分解差异进而影响土壤性质^[16, 19]。因此, 4 种植物长期生长导致其林下土壤性质差异显著(表 1)。4 种林分之间土壤固碳细菌基因丰度和总细菌丰度存在差异, 毛竹林最高、阔叶林最低, 毛竹林土壤显著高于其他 3 种林分, 推测毛竹林土壤具有较强的固碳潜力, 对土壤碳汇贡献较大。在天目山毛竹入侵阔叶林的研究中同样观察到阔叶林土壤固碳细菌基因丰度显著低于毛竹林的结果^[31]。毛竹林地下竹鞭系统极其发达、根系分泌物丰富、老鞭死亡腐烂、凋落物易降解等为土壤提供大量碳源和养分。通常认为, 土壤有机碳水平与固碳细菌丰度正相关^[13], 土壤养分水平高对微生物生长有利^[32], 本研究中毛竹、杉木与马尾松林均符合此规律; 然而, 阔叶林表现异常, 土壤有机碳含量和养分水平最高、固碳细菌丰度却最低, 说明本研究的 4 种土壤有机质含量不是影响 16S rRNA 与 *cbbL* 基因的最主要因素。虽然土壤固碳基因丰度与有机碳非正相关的结果也有报道, 如西北干旱地区不同植被土壤有机质差异显著却并未引起土壤固碳细菌丰度明显差异^[23], 可能是因其土壤缺水限制其他因子作用, 但本研究区降水充沛, 为何土壤有机碳和养分含量丰富的阔叶林却出现基因丰度最低现象似乎难以解释。基因丰度与土壤理化性质的相关性分析(表 2)表明阔叶林土壤有效磷是影响其基因丰度的重要因子, 但尚无法解释阔叶林土壤基因丰度最低的结果; 表层及亚表层土壤的两种基因丰度均与 pH 呈显著正相关($P < 0.05$)的结果也许可解释阔叶林的异常现象。大空间尺度下土壤 pH 是影响微生物多样性的关键因子, 在一定范围内 pH 与细菌多样性呈正比^[19, 22]。pH 会间接影响有机质分解和养分释放, 从而导致对生境变化较敏感的微生物种群丰度发生变化, 同时提高某些有害金属元素如铝、锰等活性, 对生物造成危害^[32]; 高浓度 H^+ 会抑制细菌生长^[33], 较低的 pH 还会改变营养元素的形态等^[34]。综观文献报道可知, 土壤理化性质对基因丰度的影响比较复杂^[30-31], 有时候几种因子的作用可能相互抵消从而掩盖某项或几项土壤理化性质与基因丰度的密切关系, 尤其是对于土壤理化性质差异不悬殊、且样本数量不大的情况, 基因丰度与理化性质之间的相关性更加难

以达到显著水平。因此, 不同研究者所选择的对象不同, 难以获得驱动土壤固碳细菌变化因子的一致规律。

3.2 不同林分土壤固碳细菌群落多样性和结构差异及其环境驱动因子分析

对固碳细菌功能基因 *cbbL* 进行高通量测序, 全面分析了 4 种森林植被土壤固碳细菌的群落结构与多样性特征。 α 多样性主要关注局域均匀生境下的物种数目, 适合本研究固碳细菌多样性的描述。由 α 多样性指数表(表 3)可以推测, 杉木和毛竹林土壤固碳细菌存在着明显的优势种群, 一方面可能与纯林植被多样性低有关; 另一方面是杉木林长期种植分泌出的酚类物对土壤理化性质和微生物产生不良影响^[35], 而毛竹林的特殊性可能也与其发达的地下竹鞭系统有关。4 种林分亚表层土壤多样性均高于表层, 类似的结果在棉花和花生等农田土壤也有报道^[16], 可能与亚表层根系密集分布、丰富的根系分泌物和呼吸产生大量 CO_2 有利于固碳细菌生长繁殖有关。

不同林分之间固碳细菌丰度和多样性差异的根本原因是群落结构不同, 从韦恩图结果显示的林分之间差异(图 3), 毛竹林土壤固碳细菌群落组成特异性强、与其他几种林分的差异最大; 杉木林土壤固碳细菌丰富度最低; 而阔叶和马尾松林土壤虽然 OTU 总数多, 但特有 OTU 比例却最少, 说明两者土壤固碳细菌种类丰富。李永春等^[36]利用 DGGE 对 4 种林分土壤氨氧化细菌群落结构研究发现, 林分之间的相似关系与本研究完全不同。虽然固碳细菌和氨氧化细菌均属于细菌, 但固碳细菌是指所有自养细菌的总称, 种类多, 而氨氧化细菌是特殊生理功能的群体, 种类少, 因此其对环境变化的响应不同。

本研究中 4 种林分表层土壤占绝对优势的甲基化石油杆菌属, 在桂林毛村岩溶的岩溶区农田土壤中为第二优势属^[37], 甲基化石油杆菌属是杉木林的绝对优势种群, 表层土壤中占比高达 70.85%, 马尾松林则占比最低(38.60%); 优势属的明显差异可能受到植物凋落物以及根系分泌物的影响较大。红长命菌属在阔叶林、马尾松林中大量存在, 但在毛竹林与杉木林却极少发现, 可能该菌与自然林中的某些植物有关。土壤性质对固碳细菌群落结构差异的

影响是主要原因^[13], 从 RDA 结果判断驱动土壤固碳细菌变化的因子发现(图 4), 表层土壤固碳细菌群落结构受有效磷、全氮、pH 影响; 丰富的氮、磷营养塑造了阔叶林表层土壤固碳细菌群落结构特征, 较高的氮素水平和 pH 则是形成毛竹林土壤固碳细菌群落结构主要因素, 其他林分依次类推。亚表层主要受有机碳、有效磷、pH 调控, 虽然 4 种林分在坐标图中的分布区沿逆时针旋转 90 度, 但驱动不同林分土壤固碳细菌群落结构形成的环境与表层土壤基本一致, 土壤 pH 对毛竹和杉木土壤固碳细菌结构形成密切相关。虽然不同研究者得到的驱动土壤固碳细菌群落结构变化的主要因子不尽相同, 但土壤 pH 是较为一致的驱动因子^[14, 30]。

4 结 论

毛竹林、阔叶林、杉木林和马尾松林 4 种森林植被土壤中均存在相当数量的细菌及固碳细菌, 其中毛竹林显著高于其他 3 种林分, 阔叶林土壤有效磷以及不同土层的 pH 分别与对应的细菌与固碳细菌基因丰度显著相关。杉木土壤固碳细菌多样性显著低于其他 3 种林分; 双因子分析显示, 林型、土层之间均存在显著差异。4 种林分土壤固碳细菌群落结构与农田、草地和海洋等生态系统有较大差异, 甲基化石油杆菌属和诺卡菌属为 4 种林分共同的优势菌属; 毛竹和杉木两种人工林土壤固碳细菌群落结构组成较为相似。RDA 结果显示, 不同林分土壤 pH、有机碳、有效磷、全氮差异是驱动土壤固碳细菌群落特征形成的主要因素。毛竹林土壤肥力最好, 固碳细菌丰度最高, 不同林分之间土壤微生物对土壤有机质的积累的贡献存在差异, 确切定量结论有待进一步研究。

参考文献 (References)

- [1] Adams J M, Piovesan G. Uncertainties in the role of land vegetation in the carbon cycle[J]. *Chemosphere*, 2002, 49 (8): 805–819.
- [2] Wu J S, Li Y, Tong C L, et al. The key geo-biochemical processes of the long-term carbon sequestration and its mechanisms in the subtropical paddy soils[J]. *Research of Agricultural Modernization*, 2018, 39 (6): 895–906. [吴金水, 李勇, 童成立, 等. 亚热带水稻土碳循环的生物地球化学特点与长期固碳效应[J]. *农业现代化研究*, 2018, 39 (6): 895–906.]
- [3] Ge T D, Wu X H, Chen X J, et al. Microbial phototrophic fixation of atmospheric CO₂ in China subtropical upland and paddy soils[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2013, 113: 70–78.
- [4] Zhang W, Li Y L. Research status and prospects of carbon dioxide sequestration technique[J]. *Environmental Pollution and Control*, 2006, 28 (12): 950–953. [张炜, 李义连. 二氧化碳储存技术的研究现状和展望[J]. *环境污染与防治*, 2006, 28 (12): 950–953.]
- [5] Parry M, Canziani O, Palutikof J, et al. Climate change 2007 : Impacts , adaptation and vulnerability//Contribution of working group II to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on climate change[EB/OL]. 2007.
- [6] Hügler M, Sievert S M. Beyond the Calvin cycle: Autotrophic carbon fixation in the ocean[J]. *Annual Review of Marine Science*, 2011, 3 (1): 261–289.
- [7] Falkowski P. The global carbon cycle: A test of our knowledge of earth as a system[J]. *Science*, 2000, 290 (5490): 291–296.
- [8] Jian Y, Zeng G J, Zhou P, et al. Input and distribution of autotrophic microbe-assimilated carbon in humus and aggregate fractions of soils[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2014, 27 (12): 1499–1504. [简燕, 曾冠军, 周萍, 等. 自养微生物同化碳在土壤腐殖质组分及团聚体中的分配[J]. *环境科学研究*, 2014, 27 (12): 1499–1504.]
- [9] Nanba K, King G M, Dunfield K. Analysis of facultative lithotroph distribution and diversity on volcanic deposits by use of the large subunit of ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70 (4): 2245–2253.
- [10] Nanba K, King G M, Dunfield K. Analysis of facultative lithotroph distribution and diversity on volcanic deposits by use of the large subunit of ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70 (4): 2245–2253.
- [11] Tourova T P, Kovaleva O L, Sorokin D Y, et al. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase genes as a functional marker for chemolithoautotrophic halophilic sulfur-oxidizing bacteria in hypersaline habitats[J]. *Microbiology*, 2010, 156 (7): 2016–2025.
- [12] Kong W D, Ream D C, Priscu J C, et al. Diversity and expression of RubisCO genes in a perennially ice-covered Antarctic lake during the polar night transition[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78 (12): 4358–4366.
- [13] Tabita F R. Molecular and cellular regulation of autotrophic carbon dioxide fixation in microorganisms[J]. *Microbiological Reviews*, 1988, 52 (2): 155–189.
- [14] Yuan H Z, Qin H L, Liu S L, et al. Abundance and composition of CO₂ fixating bacteria in relation to

- long-term fertilization of paddy soils[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32 (1): 183–189. [袁红朝, 秦红灵, 刘守龙, 等. 长期施肥对稻田土壤固碳功能菌群落结构和数量的影响[J]. *生态学报*, 2012, 32 (1): 183–189.]
- [15] Gao J, Muhammad S, Yue L Y, et al. Changes in CO₂-fixing microbial community characteristics with elevation and season in alpine meadow soils on the northern Tibetan Plateau[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38 (11): 3816–3824. [高静, Said Muhammad, 岳琳艳, 等. 藏北高原草甸土壤固碳微生物群落特征随海拔和季节的变化[J]. *生态学报*, 2018, 38 (11): 3816–3824.]
- [16] Cao X B, Lin D, Cai L, et al. Effects of different vegetation communities on soil carbon fraction, RubisCO activity and *cbbL* genes in Nanjishan Wetland of Poyang Lake[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2017, 54 (5): 1269–1279. [曹煦彬, 林娣, 蔡璐, 等. 鄱阳湖南矶山湿地不同植被类型对土壤碳组分、羧化酶及 *cbbL* 基因的影响[J]. *土壤学报*, 2017, 54 (5): 1269–1279.]
- [17] Tolli J, King G M. Diversity and structure of bacterial chemolithotrophic communities in pine forest and agroecosystem soils[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71 (12): 8411–8418.
- [18] Wang S. Research progress of carbon cycling of forest ecosystem[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2013, 41 (4): 1560–1563. [汪森. 森林生态系统碳循环研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2013, 41 (4): 1560–1563.]
- [19] An X J, Li P, Dai W, et al. The variation characteristics of soil organic carbon and its relationship with soil properties in typical subtropical plantations[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(22): 53–58. [安晓娟, 李萍, 戴伟, 等. 亚热带几种林分类型土壤有机碳变化特征及与土壤性质的关系[J]. *中国农学通报*, 2012, 28 (22): 53–58.]
- [20] Haichar F Z, Marol C, Berge O, et al. Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure[J]. *The ISME Journal*, 2008, 2(12): 1221–1230.
- [21] Bardelli T, Gómez-Brandón M, Ascher-Jenull J, et al. Effects of slope exposure on soil physico-chemical and microbiological properties along an altitudinal climosequence in the Italian Alps[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 575: 1041–1055.
- [22] Wu Z Y, Lin W X, Chen Z F, et al. Characteristics of soil microbial community under different vegetation types in Wuyishan National Nature Reserve, East China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24 (8): 2301–2309. [吴则焰, 林文雄, 陈志芳, 等. 武夷山国家自然保护区不同植被类型土壤微生物群落特征[J]. *应用生态学报*, 2013, 24 (8): 2301–2309.]
- [23] Liu Q, Wei X M, Wu X H, et al. Characteristic of abundances and diversity of carbon dioxide fixation microbes in paddy soils[J]. *Environmental Science*, 2017, 38 (2): 760–768. [刘琼, 魏晓梦, 吴小红, 等. 稻田土壤固碳功能微生物群落结构和数量特征[J]. *环境科学*, 2017, 38 (2): 760–768.]
- [24] Tang Z X, Fan F L, Wan Y F, et al. Abundance and diversity of RuBisCO genes responsible for CO₂ fixation in arid soils of northwest China[J]. *Pedosphere*, 2015, 25 (1): 150–159.
- [25] Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000. [鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.]
- [26] Yuan H Z, Ge T D, Zou S Y, et al. Effect of land use on the abundance and diversity of autotrophic bacteria as measured by ribulose-1, 5-biphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) large subunit gene abundance in soils[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49 (5): 609–616.
- [27] Fierer N, Jackson J A, Vilgalys R, et al. Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71 (7): 4117–4120.
- [28] Chaudhary D R, Gautam R K, Yousuf B, et al. Nutrients, microbial community structure and functional gene abundance of rhizosphere and bulk soils of halophytes[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 91: 16–26.
- [29] Liu D W. A basic study on the microbial mechanism of soil organic carbon accumulation structures under different fertilization treatments of long-term Argo-ecosystem experiments[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011. [刘达文. 长期不同施肥处理下南方典型水稻土有机碳积累的微生物学机制初探[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.]
- [30] Yuan H Z, Qin H L, Liu S L, et al. Advances in research of molecular ecology of carbon fixation microorganism[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44 (14): 2951–2958. [袁红朝, 秦红灵, 刘守龙, 等. 固碳微生物分子生态学研究[J]. *中国农业科学*, 2011, 44 (14): 2951–2958.]
- [31] Liu C X, Zhou Y, Xu Q F, et al. Effects of intensive management on the community structure and diversity of CO₂-assimilating bacteria in a *Phyllostachys pubescens* stand[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38 (21): 7819–7829. [刘彩霞, 周燕, 徐秋芳, 等. 毛竹林集约经营对土壤固碳细菌群落结构和多样性的影响[J]. *生态学报*, 2018, 38 (21): 7819–7829.]
- [32] Liang X. Effects of *Phyllostachys pubescens* invasion of native broadleaf forest on community characteristics of soil CO₂-fixing bacteria and its mechanism[D]. Hangzhou: Zhejiang A & F University, 2017. [梁雪. 毛竹入侵阔叶林对土壤固碳功能菌群落特征的影响及其机制[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2017.]

- [33] Shen P, Chen X D. Microbiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2009. [沈萍, 陈向东. 微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.]
- [34] Rousk J, Brookes P C, Bååth E. Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(6): 1589–1596.
- [35] Stockdale E A, Shepherd M A, Fortune S, et al. Soil fertility in organic farming systems - fundamentally different?[J]. Soil Use and Management, 2006, 18: 301–308.
- [36] Yang Y S, Yu X T, Qiu R H, et al. Variation of rhizospheric soil fertility under different Chinese fir rotations[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 1999, 5 (3): 254–258. [杨玉盛, 俞新妥, 邱仁辉, 等. 不同栽杉代数根际土壤肥力及生物学特性变化[J]. 应用与环境生物学报, 1999, 5 (3): 254–258.]
- [37] Li Y C, Liu B R, Guo S, et al. Characteristics of soil ammonia-oxidation microbial communities in different subtropical forests, China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, 25 (1): 125–131. [李永春, 刘卜榕, 郭帅, 等. 亚热带不同林分土壤氨氧化菌群落特征[J]. 应用生态学报, 2014, 25 (1): 125–131.]
- [38] Zhang S S, Jin Z J, Jia Y H, et al. Community structure of CO₂-fixing soil bacteria from different land use types in Karst areas[J]. Environmental Science, 2019, 40 (1): 412–420. [张双双, 靳振江, 贾远航, 等. 岩溶地区不同土地利用方式土壤固碳细菌群落结构特征[J]. 环境科学, 2019, 40 (1): 412–420.]

(责任编辑: 卢 萍)