

藏东南森林土壤微生物群落结构与土壤酶活性随海拔梯度的变化

斯贵才^{1,2} 袁艳丽² 王建² 夏燕青¹ 雷天柱¹ 张更新^{2*}

- (1. 甘肃省油气资源研究重点实验室 (中国科学院地质与地球物理研究所 兰州油气资源研究中心) 中国科学院油气资源研究重点实验室 甘肃 兰州 730000)
(2. 中国科学院青藏高原研究所 高寒生态学与生物多样性实验室 北京 100101)

摘要:【目的】针对青藏高原藏东南地区色季拉山不同海拔森林土壤, 探讨微生物群落与土壤酶活性之间的联系以及受控因子。【方法】利用微生物细胞膜磷脂(PLFA)方法研究土壤微生物群落结构随海拔变化情况, 分析土壤葡萄糖苷酶、酚氧化酶、蛋白酶、L-天冬酰胺酶、脲酶和酸性磷酸酶活性以及土壤理化性质随海拔的变化趋势。【结果】土壤理化性质和生化指标随海拔增高没有显著变化, 如水分含量、有机碳、全氮、碳氮比、pH、无机氮和硝态氮, 土壤葡萄糖苷酶、酚氧化酶、蛋白酶、L-天冬酰胺酶和酸性磷酸酶活性等; 然而, 微生物丰度呈现中峰优势分布规律, 细菌、真菌、革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和放线菌含量在海拔 3 900 m 和 4 000 m 处生物量显著高于低海拔和更高海拔。皮尔森相关性分析表明土壤 pH 是影响微生物群落结构的主要因子, 但海拔梯度上的温度变化与微生物群落结构和酶活性不存在显著相关性; 同时, 有机碳、全氮、水溶性有机碳和水溶性有机氮和 pH 等理化指标与土壤酶活性显著相关。【结论】在藏东南色季拉山森林生态系统, 海拔梯度对土壤微生物群落结构影响较大, 土壤理化指标与生物特征对海拔梯度的响应较弱。

关键词: 土壤微生物, 土壤酶活性, 青藏高原, 森林生态系统

基金项目: 中国科学院重要方向性项目(No. KZCX2-EW-112); 国家自然科学基金项目(No. 41072107)

*通讯作者: ✉: zhangg@itpcas.ac.cn

收稿日期: 2014-01-06; 接受日期: 2014-03-04; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-03-24

Microbial community and soil enzyme activities along an altitudinal gradient in Sejila mountains

SI Gui-Cai^{1,2} YUAN Yan-Li² WANG Jian² XIA Yan-Qing¹ LEI Tian-Zhu¹
ZHANG Geng-Xin^{2*}

(1. Gansu Provincial Key Laboratory of Petroleum Resources, Key Laboratory of Petroleum Resources Research, Institute of Geology and Geophysics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou, Gansu 730000, China)

(2. Laboratory of Alpine Ecology and Biodiversity, Institute of Tibetan Plateau Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: [Objective] This study tried to find the key factor which affected the soil microbial communities and enzyme activities along an altitudinal gradient in forest ecosystem in Sejila mountains. [Methods] This study tested six soil enzyme activities (β -glucosidase, phenol oxidase, protease, L-asparaginase, urease and acid phosphatase) and soil microbial communities structures (bacteria, fungi, gram-positive bacteria, gram-negative bacteria and actinomycete). [Results] Soil physicochemical properties such as moisture, TOC, TN, C/N and pH had no significant changes along the altitudinal gradient. Moreover, soil enzyme activities such as β -glucosidase, phenol oxidase, protease, L-asparaginase and acid phosphatase had no significant change along the altitudinal gradient. However, bacteria, fungi, gram-positive bacteria, gram-negative bacteria and actinomycete biomass all showed a mid-domain effect along the altitudinal gradient, which reached higher values at 3 900 and 4 000 m.s.a.l. Person correlation analysis showed that pH was the key factor structuring microbial communities, yet mean annual temperature had no significant correlation with microbial communities and enzyme activities. Instead, soil physicochemical properties such as TOC, TN, WSOC and WSON were key factors in enzyme activities. [Conclusion] These results suggested that elevational gradients had an important influence on soil microbial communities, but not on soil physicochemical factors and soil enzyme activities.

Keywords: Soil microorganism, Soil enzyme activities, Tibet Plateau, Forest ecosystem

近年来地球生物多样性得到了越来越多的关注,但微生物地理学方面的相关报道仍然较少^[1-2]。与动植物方面研究相比,环境因子对土壤微生物影响的研究比较少,而且已有研究大多集中在水平空间尺度上^[3],垂直尺度即海拔梯度上环境因子对土壤微生物的影响鲜有报道。

海拔梯度通常被理解为自然温度、水分和光照梯度,主要因为年均温和水分等气象水文因子随着海拔的增加而发生显著变化。气候因子,尤其是温度和降水,通常在海拔梯度上和动植物有着很强的相关性^[4-5],但是与土壤微生物的关系还不是很清楚。一般而言,温度较高、水分较好,微生物能旺盛繁殖;温度和水分不适宜,微生物不易繁殖。Giri等^[6]研究发现细菌生物量和海拔高度有着明显

的负相关关系,Margesin等^[7]发现真菌生物量和多样性都随着海拔增加而下降。相反,Mannisto等^[8]在研究海拔梯度时发现土壤理化性质特别是pH可能主导了土壤微生物群落的变化规律,而温度梯度的作用可能较小。这一研究结果与最近的报道基本一致,如Shen等^[9]发现pH是影响长白山海拔梯度土壤微生物群落结构的主要因子。

青藏高原位于中低纬度,面积达 $2.25 \times 10^6 \text{ km}^2$,约占我国国土面积的1/4,平均海拔在4 000 m以上,被认为是全球气候变化的敏感区,全球气候的微小变化可能会引起该区域自然环境要素(包括土壤微生物群落结构和土壤酶活性)发生显著性的变化^[10]。此外,西藏东南部林芝地区是我国第三大林区 and 最大的原始林区,有林地面积264万 km^2 ,

森林覆盖率 46.1%，森林蓄积量 8.82 亿 m^3 ，占西藏自治区森林蓄积量的 42.3%，占全国的 7.5%^[11]。研究森林海拔对土壤微生物的影响具有较强的代表性。

本研究的目的是：(1) 查明藏东南色季拉山森林土壤微生物群落和土壤酶活性随海拔的变化特征；(2) 查明藏东南色季拉山森林土壤微生物和土壤酶活性与环境因子之间的关系。

1 材料与方 法

1.1 研究区概况

研究区位于青藏高原林芝地区色季拉山，从海拔 3 800 m 到 4 100 m (29°10′–30°15′N，93°12′–95°35′E)。根据林芝气象观测站 1979 年到 2010 年的气象观测，研究区年均温、最高月均温以及最低月均温分别是 -0.7、14.0 和 -9.2 °C。年降水量 1 134.1 mm，远高于年蒸发量 544.0 mm。年均相对湿度 78.83%。雨季集中在 6–9 月份，占全年降水的 80%左右，其中 8 月份降雨最多，平均强度约为 294.2 mm，占全年降水的 30%。植被主要由乔木、灌木和草本组成。灌木主要有冷杉、薄毛海绵杜鹃、忍冬 (*Lonicera* spp.) 和硬毛杜鹃 (*Rhododendron hirtipes*) 等，草本主要有毛茛 (*Ranunculus* spp.)、地榆 (*Sanguisorba* spp.)、报春花 (*Primula* spp.) 和马先蒿 (*Pedicularis* spp.) 等^[12-13]。

1.2 样品采集

为了研究环境因子对土壤微生物群落结构与活性的影响，我们选择了色季拉山森林土壤。2011 年 8 月，从海拔 3 700–4 100 m 每 100 m 为间隔的 5 个海拔，我们采取 0–15 cm 土层的样品。每个海拔分别在 10 m×10 m 的样方中采集一个混合土壤样品，每个海拔共采集 4 个重复样品，5 个海拔上植被都以冷杉和金银花为主。土壤采集后立刻用 2 mm 的土壤筛过筛以去除植物根和石头。样品装在保温箱里空运回实验室，每个样品都分成两份，用于土壤理化分析的一份放入 4 °C 保存，用于微生物分析的一份放入 -80 °C 保存。

1.3 分析方法

1.3.1 土壤理化分析：自然风干的样品用于测 pH、有效氮和有效磷。称取 5 g 土壤在 105 °C 烘 12 h 测含水量。水土比 1/2.5 测土壤 pH。土壤粒径用粒度分析仪 (Microtrac S3500) 测量。土壤有机碳用日本岛津公司 TOC-VCPH 型分析仪测量。土壤总氮用凯氏定氮仪测量。土壤总磷用紫外分光光度计测量。

土壤水溶性物质根据 Jones 方法^[14]测定。2.5 g 湿土加入 25 mL 去离子水 200 r/min 搅拌 15 min，然后 2 500 r/min 离心 10 min 取得上清液。水溶性有机碳和水溶性有机氮用日本岛津公司 TOC-VCPH 型分析仪分析。阴离子用离子色谱 (Binex ICS900) 分析。硝态氮和铵态氮含量用流动分析仪 (Futura) 测定。

1.3.2 土壤酶分析：土壤酶活性采用关松荫等的研究方法^[15]，酚氧化酶活性用分光光度法在酶标仪 MD M5 上测定。1 g 干土加入 10 mL 1% 浓度的焦糖酸作为底物，在 30 °C 混合 10 min。葡萄糖苷酶活性以 Para-nitrophenyl- β -D-glucopyran-oxide (pNPG) 为底物。1 g 湿土加入 4 mL 0.05 mol/L 缓冲液以及 1 mL 5 mmol/L 的 PNP 在 37 °C 水浴 1 h。L-天冬酰胺酶活性用 5 g 土置于 50 mL 三角瓶中，用 0.5 mL 甲苯处理。15 min 后加 10 mL 3% 天冬酰胺和 10 mL (pH 6.7) 磷酸盐缓冲液于 37 °C 恒温箱中培养 24 h。脲酶活性用 0.5 g 湿土加入 2.5 mL 80 mmol/L 脲素和 20 mL 75 mmol/L 硼酸盐缓冲溶液在 37 °C 反应 2 h。蛋白酶活性用 1 g 新鲜土壤加入 5 mL 酪蛋白溶液和 5 mL 三异丙基乙磺酰缓冲溶液在 50 °C 培养 2 h。酸性磷酸酶活性用苯基磷酸盐作基质，以酚的释放量表示磷酸酶活性。

1.3.3 磷脂脂肪酸提取和分离：磷脂脂肪酸抽提方法通过修改过的 BD 方法^[16]，在冷冻干燥后的 5 g 样品中加入单一相的氯仿、甲醇和磷酸盐缓冲溶液的混合溶剂 (1:2:0.8，体积比，pH 7.4)，振荡抽提 2 h，离心得到上清液，在上清液中加入等比例的水和氯仿，静置分层吸取下层有机相。此过程重复

抽提两次。两次抽提得到的有机相混合在一起,通过硅胶层析柱分别用氯仿、丙酮和甲醇冲洗得到中性脂、糖脂和磷脂。磷脂进一步通过 37 °C 水浴 15 min 在碱性条件下水解为磷脂脂肪酸甲酯,样品置于-20 °C 保存。磷脂脂肪酸分析采用美国 Agilent6890A 型气相色谱仪,包括全自动进样装置、石英毛细管柱及氢火焰检测器。鉴定采用美国 MIDI 公司(MIDI, Newark, Delaware, USA)开发的基于细菌细胞磷脂脂肪酸成分鉴定的 Sherlock MIS 4.5 系统(Sherlock Microbial Identification System)。

1.4 统计分析方法

各海拔变量之间的显著性差异采用单因素方差分析和多重比较分析,土壤因子和微生物群落与土壤酶活性之间的相关关系采用皮尔森相关分析。所有的分析通过 SPSS 18.0 软件进行。所有的统计分析都在 $P=0.05$ 的范围进行。

2 结果与讨论

2.1 土壤理化性质沿海拔梯度的变化

色季拉山年均温随着海拔的增加而下降,但是多数土壤物理化学指标在海拔梯度上没有明显的变化趋势(表 1)。土壤水分、有机碳、全氮、硝态氮含量和碳氮比值、pH 在海拔梯度上没有显著性的变化。有机碳和全氮最小值皆出现在最高海拔 4 100 m 处,分别为 71.8 mg/kg 和 2.6 mg/kg,最大值出现在中间海拔 3 900 m 处,分别为 84.1 mg/kg 和 3.4 mg/kg。同时,土壤含水量最高为 77.3%,也出现在中间海拔 3 900 m 处,尽管所有海拔土壤都呈现酸性,但在这一海拔土壤 pH 值最低。值得注意的是,土壤碳氮比(C/N)通常被认为是土壤质量的敏感指标,可衡量土壤 C、N 营养平衡状况,低的 C/N 比可以加快微生物的分解和氮的矿化速率,在森林土壤中,高的碳氮比则使真菌比例相对较高,体现了真菌的竞争优势^[17],但海拔土壤碳氮比均小于 30。此外,水溶性有机碳、水溶性有机氮、铵态氮和土壤阴离子含量在海拔梯度上均有

明显的中峰优势。如水溶性有机碳和水溶性有机氮含量在中间海拔 3 900 m 处最大,分别为 921.3 mg/kg 和 61.7 mg/kg。相对低海拔和更高海拔具有显著性的增加。相似的,氯离子含量也是在中间海拔 3 900 m 处最大,并且显著性的高于低海拔和更高海拔。因为中间海拔处降水量较多,土壤水含量最高,使得水溶性物质含量最高。此外,植物种类和组成不同,其根系分泌物和枯落物的质和量就不同,可能会使得土壤物理化学性质有差异,从而可能会引起土壤微生物和酶活性的差异。在研究的海拔梯度上植被都以冷杉和金银花为主,并没有明显的差异(表 1)。因此我们在本研究中忽略了植被因素。

2.2 土壤酶活性沿海拔梯度的变化

研究了 6 种土壤酶活性随海拔的变化,它们分别与土壤碳循环、氮循环和磷循环密切相关。除了脲酶活性以外,其余土壤酶活性在 4 个海拔梯度上没有显著性的变化趋势(图 1)。 β -葡萄糖苷酶和酚氧化酶是与碳循环密切相关的土壤酶, β -葡萄糖苷酶是一种重要的水解酶,它们能够水解 1-4 糖苷键,释放出 β -葡萄糖;酚氧化酶可以使酚氧化成醌,而醌可以保护微生物免受感染^[18]。这两种酶活性皆在海拔 3 900 m 处最高,分别是 425.23 $\mu\text{g pNP}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 和 253.06 $\mu\text{g PG}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。虽然在海拔梯度上没有明显的变化,但是 β -葡萄糖苷酶活性与土壤有机碳含量呈极显著正相关($P<0.01$),与土壤 pH 呈极显著负相关关系,并且与土壤 pH 有最大的相关系数($R=-0.781$)。酚氧化酶活性与土壤水溶性有机碳和水溶性有机氮呈极显著正相关,与有机碳和全氮呈显著性正相关($P<0.05$),与土壤 pH 呈显著性负相关(表 2)。说明土壤物理化学性质相对于气候或海拔因子对与碳循环相关土壤酶活性有更强的影响。土壤有机碳、全氮、水溶性有机氮和水溶性有机碳含量越高,土壤中与碳循环相关的土壤酶活性则越高。土壤 pH 酸性越强,与碳循环相关土壤酶活性则越高。

表 1 采样点基本信息
Table 1 Basic information of sampling sites

海拔 Elevation (m)	年均温 ^A MAT (°C) ^A	主要植被 Predominant species	土壤水 Moisture	pH	有机 碳 TOC (g/kg)	全氮 TN (g/kg)	碳氮 比 C/N	全磷 TP (g/kg)	水溶性有 机碳 WSOC (mg/kg)	水溶性 有机氮 WSON (mg/kg)	硝态氮 NO ₃ -N (mg/kg)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N (mg/kg)	氯离子 Chloride (mg/kg)	硝酸根 离子 Nitrate (mg/kg)	硫酸根 离子 Sulfate (mg/kg)
3 700	4.3	冷杉、金银花	65.2 (5.0)a	4.4 (0.1)a	81.1 (10.3)a	2.8 (0.4)a	28.9 (1.9)a	0.7 (0.0)b	656.3 (57.8)ab	42.0 (5.7)ab	4.1 (0.3)a	21.7 (2.6)b	7.4 (0.5)b	1.5 (0.3)b	17.5 (4.9)b
3 800	3.7	冷杉、金银花	69.6 (5.9)a	4.5 (0.1)a	76.4 (10.1)a	3.2 (0.2)a	23.9 (1.9)a	0.9 (0.0)a	657.0 (92.9)ab	41.7 (2.5)ab	5.2 (0.4)a	24.7 (1.7)ab	28.1 (6.1)b	3.6 (1.1)b	37.2 (4.5)a
3 900	3.3	冷杉、金银花	77.3 (4.7)a	4.1 (0.1)a	84.1 (7.8)a	3.4 (0.4)b	24.7 (2.1)a	0.6 (0.0)b	921.3 (125.8)a	61.7 (8.5)a	5.1 (0.7)a	24.8 (1.8)ab	45.6 (11.0)a	10.0 (1.5)a	30.4 (8.9)b
4 000	2.6	冷杉、金银花	63.1 (4.3)a	4.7 (0.1)a	72.1 (4.6)a	2.7 (0.2)a	26.7 (2.5)a	0.8 (0.0)a	478.3 (47.8)b	38.6 (3.2)b	7.1 (2.2)a	30.5 (1.6)a	22.5 (3.4)b	10.0 (0.6)a	15.3 (1.9)b
4 100	2.0	冷杉、金银花	72.2 (2.0)a	4.2 (0.0)a	71.8 (3.6)a	2.6 (0.1)a	27.6 (3.7)a	0.8 (0.0)a	359.1 (42.4)b	29.0 (2.7)b	6.8 (1.2)a	25.6 (1.1)ab	25.0 (4.8)b	12.2 (1.7)a	16.2 (2.7)b

注: A: 根据林芝观测站 1980–2010 年间的平均数据, 不同的小写字母间表示差异显著(LSD, $P < 0.05$).

Note: A: Data was mean value of thirty years from 1980 to 2010. Figures in brackets indicate standard deviation, different lowercase letters indicate significant difference among the elevational gradients at $P < 0.05$ with LSD.

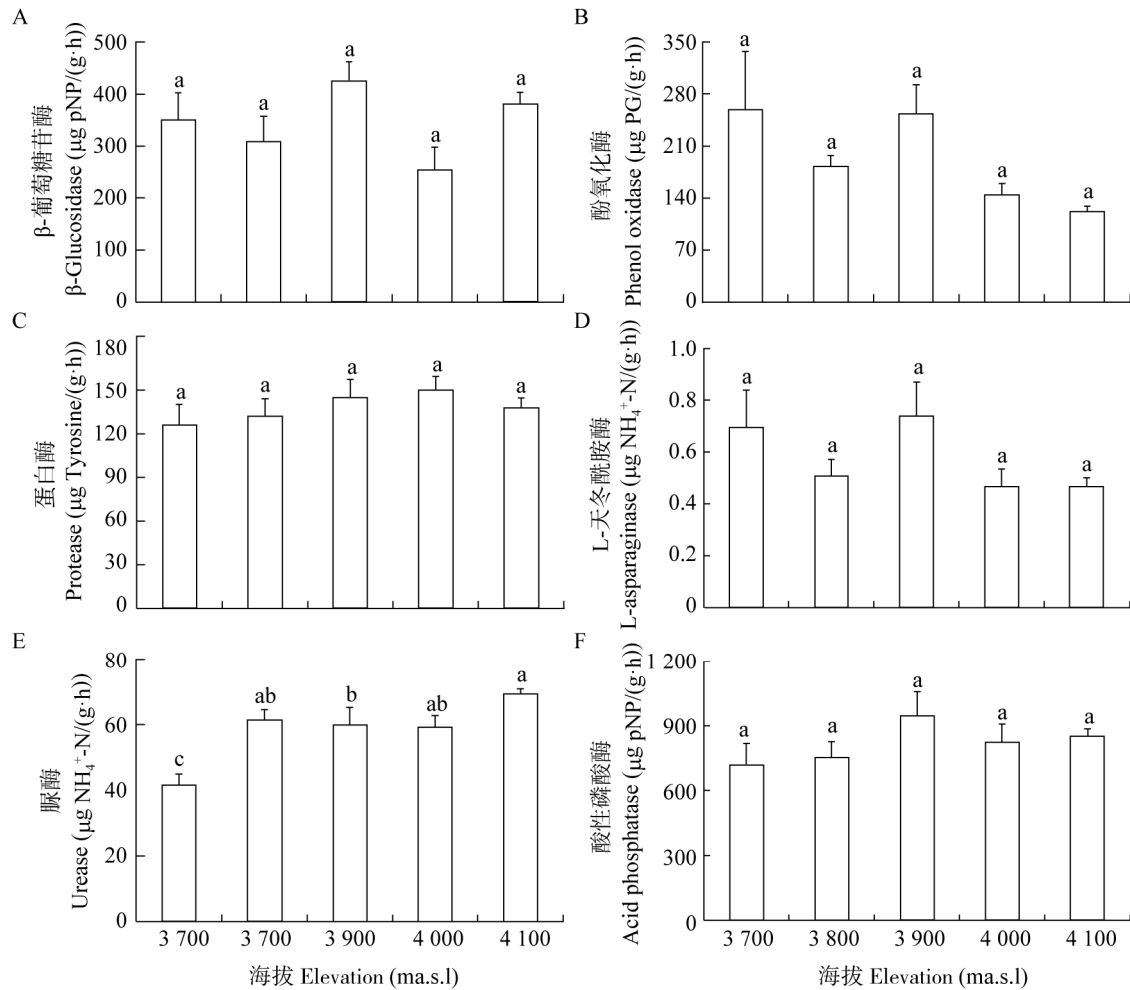


图1 土壤酶活性沿海拔梯度的变化

Figure 1 Soil enzyme activities of soil samples change along the altitude gradients

注：不同的字母间表示差异显著(LSD, $P < 0.05$)。A: β-葡萄糖苷酶活性；B: 酚氧化酶活性；C: 蛋白酶活性；D: L-天冬酰胺酶活性；E: 脲酶活性；F: 酸性磷酸酶活性。

Note: Different letters indicate significant difference among the elevational gradients at $P < 0.05$ with LSD. A: β-Glucosidase; B: Phenol oxidase; C: Protease; D: L-asparaginase; E: Urease; F: Acid phosphatase.

L-天冬酰胺酶、蛋白酶和脲酶都是和氮循环密切相关的水解酶,尤其脲酶在土壤氮转换中发挥了重要作用,它可以分解脲素,并且形成二氧化碳和氨。因此脲酶活性是土壤氮营养元素的重要指标^[18]。L-天冬酰胺酶活性和蛋白酶活性在海拔梯度上都没有显著性变化,脲酶活性则随海拔的增加而呈现升高趋势,在最低海拔3700 m处活性最低,为 $39.5 \mu\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{g}\cdot\text{h})$,在最高海拔4100 m活性达到最大 $71.1 \mu\text{g NH}_4^+\text{-N}/(\text{g}\cdot\text{h})$,增幅高达80%。

脲酶活性相对于最低海拔有显著性的增加。影响3种与土壤氮循环相关的土壤酶活性的理化指标较多,蛋白酶活性与有机碳和全氮呈极显著正相关,与土壤水和铵态氮呈显著性正相关,与土壤pH呈显著性负相关。L-天冬酰胺酶活性与水溶性有机碳和水溶性有机氮呈极显著正相关,与土壤水、有机碳和全氮含量呈显著性正相关,与土壤pH呈显著性负相关。与其它两种酶活性不同的是,脲酶活性在海拔梯度上与年均温有最强的极显著负相关性

表 2 土壤酶活性与土壤理化因子之间的相关关系
Table 2 Correlation coefficients (*R*) between soil enzyme activities and physical-chemical factors

指标 Parameter	葡萄糖苷酶 β -Glucosidase	酚氧化酶 Phenol oxidase	蛋白酶 Protease	L-天冬酰胺酶 L-Asparaginase	脲酶 Urease	酸性磷酸酶 Acid phosphatase
年均温 MAT	0.044	0.391*	-0.328	0.152	-0.690**	-0.370
土壤水 Moisture	0.330	0.328	0.594*	0.456*	0.660**	0.625**
有机碳 TOC	0.742**	0.596*	0.701**	0.580*	0.379	0.638**
全氮 TN	0.590*	0.465*	0.629**	0.548*	0.400*	0.421*
全磷 TP	-0.107	-0.214	0.331	-0.109	0.624*	0.336
水溶性有机碳 WSOC	0.383*	0.840**	0.173	0.661**	-0.076	0.251
水溶性有机氮 WSON	0.298	0.833**	0.200	0.684**	-0.035	0.290
硝态氮 NO_3^- -N	-0.355	-0.188	0.019	-0.273	0.226	-0.130
铵态氮 NH_4^+ -N	0.002	0.165	0.586*	0.281	0.630**	0.434*
pH	-0.781**	-0.503*	-0.404*	-0.534*	-0.356	-0.570*

Note: *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$, $n = 20$.

($R = -0.690$), 此外脲酶活性与土壤水、铵态氮含量呈极显著正相关关系。与土壤碳循环土壤酶活性相似, 说明土壤物理化学性质相对于气候或海拔因子对与氮循环相关土壤酶活性有更强的影响。土壤水、土壤有机碳、全氮、铵态氮含量越高, 土壤中与氮循环相关的土壤酶活性会越高。土壤 pH 酸性越强, 与氮循环相关土壤酶活性越高。

酸性磷酸酶是与磷循环密切相关的土壤酶, 它的活性在海拔梯度上没有显著性的变化, 但与土壤碳循环相关酶类似, 其最高活性也与碳相关土壤酶一样出现在 3 900 m 处, 为 $944.93 \mu\text{g pNP}/(\text{g} \cdot \text{h})$, 并且酸性磷酸酶活性在海拔梯度上与土壤水和有机碳含量呈极显著正相关, 与全氮和铵态氮呈显著正相关, 与土壤 pH 呈显著负相关。表明有机碳含量与土壤氮循环和磷循环相关酶活性均有较紧密的联系。此外, 土壤酸性越强, 酸性磷酸酶的活性越高。总之, 多数的土壤酶活性在海拔梯度上都没有显著性的变化趋势, 主要原因可能与土壤理化性质有关。例如, 绝大多数的土壤理化因子在海拔梯度上均未发生显著变化。此外, 土壤酶的不同来源也使得不同土壤酶活性有差别, 因为 L-天冬酰胺酶、酸性磷酸酶和蛋白酶主要源自于细菌, 脲酶主要源自于植物, 酚氧化酶广泛存在于土壤微生物和植物中^[18]。

2.3 微生物群落结构随海拔梯度的变化

土壤微生物类群之间含量上的变化是土壤微生物群落结构演替的重要内容, 尤其是土壤细菌和真菌生物量的变化^[19]。本文用磷脂脂肪酸技术研究了色季拉山海拔梯度上土壤微生物群落结构的变化规律。总体而言, 细菌(i14:0, i15:0, a15:0, C15:1, i16:0, 16:1w9c, 16:w7c, 16:1w5c, 16:1w3c, i17:0, a17:0, C17:1, cy17:0, C18:1, i19:0, cy19:0)生物量^[20-22], 真菌(C18:2, 18:1w9c)生物量^[20], 革兰氏阳性菌(i14:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0, i19:0, 10Me16:0, 10Me17:0, 10Me18:0)生物量^[23], 革兰氏阴性菌(cy17:0, cy19:0, 15:1, 16:1w9, 16:1w7, 16:1w5, 18:1w7, 19:1)生物量^[24]和放线菌(10Me16:0, 10Me17:0, 10Me18:0)生物量^[25-26], 均随海拔梯度具有显著性的变化趋势, 都在中间海拔 4 000 m 处有最大的生物量(图 2), 并在中间海拔 3 900 m 和 4 000 m 处生物量显著高于更低海拔或更高海拔生物量, 表现出中峰优势规律。我们用总 PLFAs 代表土壤总生物量时也发现同样的中峰优势规律。在许多研究中, 相似的中峰优势规律在植物和动物的分布中经常发现, 例如在菲律宾^[27]、马达加斯加^[28]、墨西哥^[29]、内华达和犹他州^[30]以及哥斯达黎加^[31]等地的研究。这些结果说明在森林生态系统中微生物在海拔梯度上的分布也可能

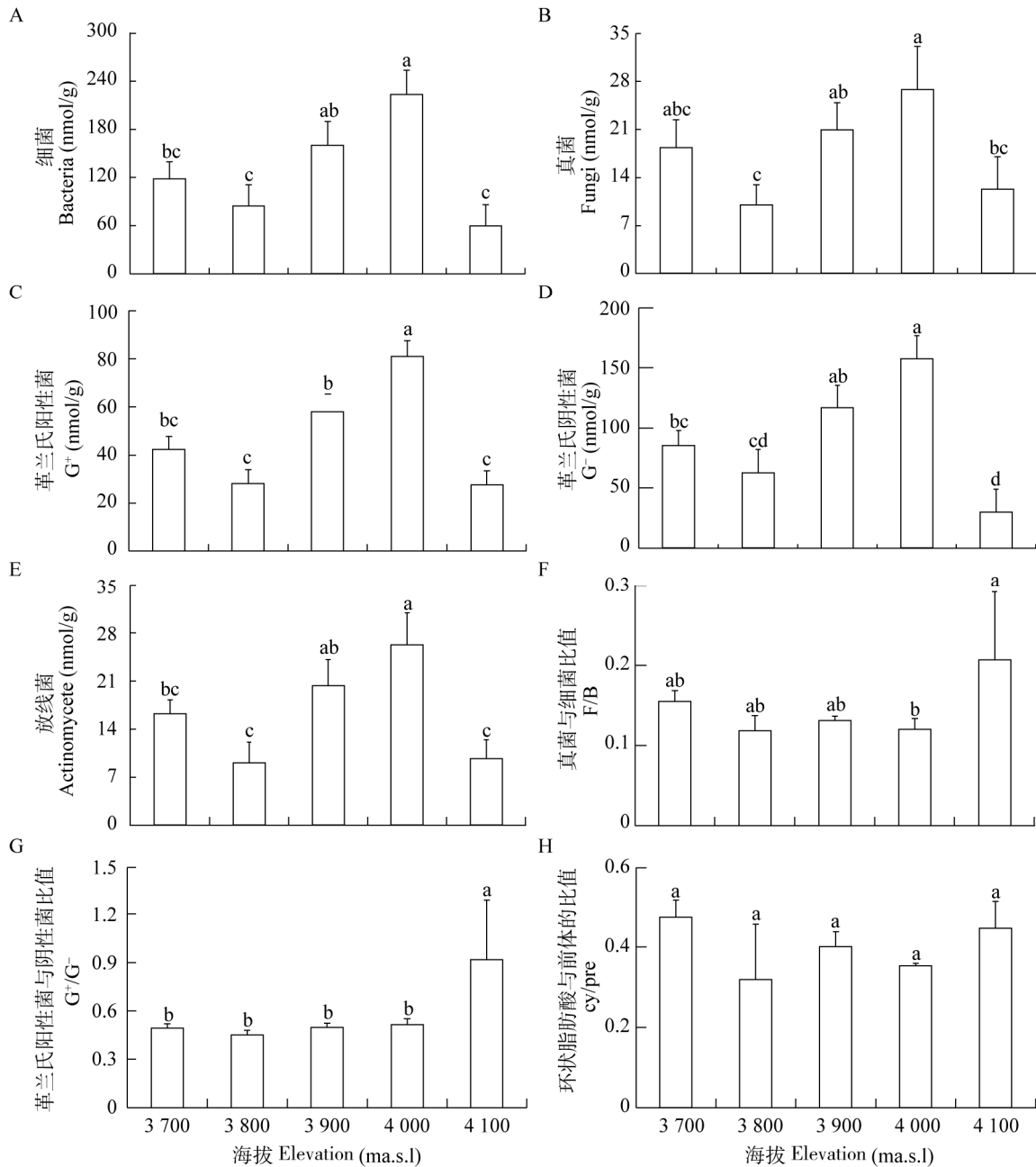


图2 土壤微生物群落结构沿海拔梯度的变化

Figure 2 Soil microbial community structure and community-relation ratios change along the altitude gradients

注：不同的字母间表示差异显著(LSD, $P < 0.05$)。A：细菌生物量；B：真菌生物量；C：革兰氏阳性菌生物量；D：革兰氏阴性菌生物量；E：放线菌生物量；F：真菌与细菌比值；G：革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌比值；H：环状脂肪酸与前体脂肪酸比值。G⁺：革兰氏阳性菌；G⁻：革兰氏阴性菌；F/B：真菌/细菌；G⁺/G⁻：革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌；cy/pre：环状脂肪酸/前体。

Note: Different letters indicate significant difference among the elevational gradients at $P < 0.05$ with LSD. A: Bacteria biomass; B: Fungi biomass; C: Gram-positive bacteria biomass; D: Gram-negative bacteria biomass; E: Actinomycete biomass; F: Fungi to bacteria ratio; G: Gram-positive bacteria to gram-negative bacteria ratio; H: Cyclopropyl fatty acid to precursor fatty acid ratio. G⁺: Gram-positive bacteria; G⁻: Gram-negative bacteria; F/B: Fungi/Bacteria; G⁺/G⁻: Gram-positive bacteria/Gram-negative bacteria; cy/pre: Cyclopropyl/Precursors.

与动植物一致,据我们所知,这是第一次研究表明森林生态系统中,微生物在海拔梯度上表现出与动植物相似分布规律。一般而言,土壤有机碳控制着土壤微生物介导的能量和营养物质循环,土壤有机碳含量越高,土壤微生物丰度越高。同时,土壤微生物在进行自身合成与代谢过程中,除了碳源,仍需同化利用一定量的氮素,适宜的土壤氮含量增加可能会提高微生物分解有机质的速率。本研究中,土壤微生物量与土壤有机碳和全氮等营养物质无显著性的相关关系,可能是有其它环境因素的干扰存在,削弱了有机碳和全氮与土壤微生物量之间的关系,例如海拔梯度上 pH 的变化(表 3),也有可能存在目前仍不清楚的一些微生物群落演替机制,仍待进一步的研究。

气候与水文等各种自然地理因素随海拔具有复杂的梯度变化,许多环境因素和生物特性会随着海拔而发生改变^[32]。其中经常被提到的是自然温

度梯度,因为年均温随着海拔的增加而下降,几乎是全球范围内一种普适性的地理学规律。然而,也有研究表明,持续的升温对微生物量并无显著影响^[33],由此可见,海拔上温度与土壤微生物生物量的关系还需要进一步深入研究。土壤 pH 与总微生物量(PLFAs)、细菌、放线菌、革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌生物量都呈显著性的正相关关系(表 3),说明在排除年均温为限制性因子的情况下,土壤 pH 对土壤微生物量的影响最大。已有的研究表明,土壤 pH 是影响微生物生长和活性的一个重要因素,对微生物量及其群落结构具有显著影响^[17]。尽管本研究采用的土壤皆呈酸性,其 pH 在 4.1-4.7 之间,但土壤 pH 仍与微生物量之间具有显著正相关关系,表明在一定条件下,相较于温度,土壤微生物可能对 pH 的变化更为敏感,越接近中性其生物量越高,土壤过酸性会抑制微生物生长,使得生物量下降。在水平空间尺度上,已经有很多的

表 3 土壤微生物群落与土壤理化因子之间的相关关系
Table 3 Correlation coefficients (*R*) between soil microbial communities and physical-chemical factors

指标 Parameter	总磷脂脂 脂肪酸 PLFAs	细菌 Bacteria	真菌 Fungi	革兰氏阳 性细菌 G ⁺	革兰氏阴 性细菌 G ⁻	放线菌 [^] Actino- mycete [^]	真菌/细 菌 F/B	阳性菌/阴 性菌 G ⁺ /G ⁻	环状脂肪酸/ 前体 cy/pre
年均温 MAT	-0.061	0.133	0.040	-0.152	0.233	0.116	-0.197	-0.536*	0.330
土壤水 Moisture	0.006	-0.056	-0.065	0.011	-0.072	-0.112	0.024	0.041	-0.183
有机碳 TOC	-0.064	-0.075	0.002	-0.074	-0.070	-0.064	0.282	0.053	0.024
全氮 TN	0.068	0.149	0.106	0.063	0.177	0.143	0.052	0.005	0.269
水溶性有机 碳 WSOC	-0.072	-0.025	-0.095	-0.131	0.063	-0.084	-0.164	-0.368	0.022
水溶性有机 氮 WSON	0.061	0.102	0.107	0.009	0.170	0.036	-0.206	-0.302	0.101
硝态氮 NO ₃ ⁻ -N	0.243	0.060	0.155	0.273	-0.002	0.074	0.052	0.086	-0.275
铵态氮 NH ₄ ⁺ -N	0.354	0.191	0.107	0.358	0.167	0.108	-0.168	-0.014	-0.079
pH	0.391*	0.390*	0.251	0.380*	0.419*	0.406*	-0.308	-0.287	0.128

注: ^: 一类革兰氏阳性菌。G⁺: 革兰氏阳性细菌; G⁻: 革兰氏阴性细菌; F/B: 真菌/细菌; G⁺/G⁻: 革兰氏阳性细菌/革兰氏阴性细菌; cy/pre: 环状脂肪酸/前体。*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$, $n=20$ 。

Note: ^: A kind of gram-positive bacteria. G⁺: Gram-positive bacteria; G⁻: Gram-negative bacteria; F/B: Fungi/Bacteria; G⁺/G⁻: Gram-positive bacteria/Gram-negative bacteria; cy/pre: Cyclopropyl/Precursors. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$, $n=20$ 。

研究表明土壤 pH 是控制微生物多样性和群落组成的重要因子^[34-36],最近也有研究表明在碱性湖泊沉积物中^[37],pH 也是指示细菌群落结构的重要因子,所有这些研究都表明土壤 pH 是土壤微生物地理分布的重要指示器。

细菌与真菌的比值常被用作微生物群落整体结构变化的重要指标。革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌的比值、环状脂肪酸和它们的前体脂肪酸的比值则常被用于环境压力对微生物群落结构的影响强度^[38]。细菌与真菌比值,革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌的比值以及环状脂肪酸和它们的前体脂肪酸的比值都在最高海拔处明显高于低海拔,革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌比值与年均温呈显著负相关,随着海拔升高,温度下降,革兰氏阳性菌的含量相对升高,说明革兰氏阳性菌在高海拔环境下更具竞争优势,可能与其适冷代谢多样性较高,适应高海拔低温胁迫的能力较强有关。革兰氏阴性菌更易生长在营养物质丰富的土壤中,而革兰氏阳性菌将在资源受限的土壤中占优势^[39]。

3 结论

本文研究了藏东南林芝地区色季拉山森林土壤微生物群落结构与土壤酶活性沿海拔梯度的变化,研究结果表明,多数土壤理化指标和土壤酶活性沿海拔均未发生显著变化,微生物量在海拔梯度上呈中峰优势分布,气候中的水热因子并不是影响土壤微生物群落结构和土壤酶活性的主要因子。相反,土壤物理化学指标尤其是有机碳、全氮、水溶性有机碳、水溶性有机氮含量和土壤 pH 是影响土壤微生物群落和活性的重要因子。

参考文献

- [1] Fierer N, Jackson RB. The diversity and biogeography of soil bacterial communities[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(3): 626-631.
- [2] Martiny JBH, Bohannan BJM, Brown JH, et al. Microbial biogeography: putting microorganisms on the map[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(2): 102-112.
- [3] Sjogersten S, Turner BL, Mahieu N, et al. Soil organic matter biochemistry and potential susceptibility to climatic

change across the forest-tundra ecotone in the Fennoscandian mountains[J]. *Global Change Biology*, 2003, 9(5): 759-772.

- [4] McCain CM. Elevational gradients in diversity of small mammals[J]. *Ecology*, 2005, 86(2): 366-372.
- [5] McCain CM. Could temperature and water availability drive elevational species richness patterns? A global case study for bats[J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2007, 16(1): 1-13.
- [6] Giri DD, Shukla PN, Kashyap S, et al. Variation in methanotrophic bacterial population along an altitude gradient at two slopes in tropical dry deciduous forest[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, 39(9): 2424-2426.
- [7] Margesin R, Jud M, Tschirko D, et al. Microbial communities and activities in alpine and subalpine soils[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 67(2): 208-218.
- [8] Mannisto MK, Tiirola M, Haggblom MM, et al. Bacterial communities in Arctic fjelds of Finnish Lapland are stable but highly pH-dependent[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 59(2): 452-465.
- [9] Shen CC, Xiong JB, Zhang HY, et al. Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2013, 57: 204-211.
- [10] 姚檀栋, 朱立平. 青藏高原环境变化对全球变化的响应及其适应对策[J]. *地球科学进展*, 2006, 21(5): 460-464.
- [11] 苏迅帆, 徐莲珍, 张硕新. 青藏高原森林生态系统服务价值评估指标的研究—以西藏林芝地区为例[J]. *西北林学院学报*, 2008, 23(3): 66-70.
- [12] 王景升, 王文波, 普琼. 西藏色季拉山主要林型土壤的水文功能[J]. *东北林业大学学报*, 2005, 33(2): 48-51.
- [13] Liang YY, Wang YF, Xu Y, et al. Growth variation in *Abies georgei* var. *smithii* along altitudinal gradients in the Sygera Mountains, southeastern Tibetan Plateau[J]. *Trees-Structure and Function*, 2010, 24(2): 363-373.
- [14] Jones DL, Willett VB. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(5): 991-999.
- [15] 关松荫, 张德生, 张志明. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [16] White D, Davis W, Nickels J, et al. Determination of the sedimentary microbial biomass by extractable lipid phosphate[J]. *Oecologia*, 1979, 40(1): 51-62.
- [17] Hogberg MN, Hogberg P, David DM. Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees, or all three[J]. *Oecologia*, 2007, 150(4): 590-601.
- [18] Caldwell BA. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review[J]. *Pedobiologia*, 2005, 49(6): 637-644.
- [19] Lovell RD, Jarvis SC, Bardgett RD. Soil microbial biomass and activity in long-term grassland-effects of management changes[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1995(27): 969-975.

- [20] Federle TW, Dobbins DC, Thorntonmanning JR, et al. Microbial biomass, activity, and community structure in subsurface soils[J]. *Ground Water*, 1996, 24(3): 365-374.
- [21] Frostegard A, Baath E, Tunlid A, et al. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty-acid analysis[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1993, 25(6): 723-730.
- [22] Frostegard A, Tunlid A, Baath E, et al. Phospholipid fatty-acid composition, biomass, and activity of microbial communities from 2 soil types experimentally exposed to different heavy-metals[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(11): 3605-3617.
- [23] Zogg GP, Zak DR, Ringelberg DB, et al. Compositional and functional shifts in microbial communities due to soil warming[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1997, 61(2): 475-481.
- [24] Mutabaruka R, Hairiah K, Cadisch G, et al. Microbial degradation of hydrolysable and condensed tannin polyphenol-protein complexes in soils from different land-use histories[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007(39): 1479-1492.
- [25] Kroppenstedt R. Fatty acid and menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms[J]. *Society for Applied Bacteriology*, 1985(20): 173-199.
- [26] Zelles L, Bai QY, Ma RX, et al. Microbial biomass, metabolic-activity and nutritional-status determined from fatty-acid patterns and poly-hydroxybutyrate in agriculturally-managed soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1994(26): 439-446.
- [27] Heaney LR. Small mammal diversity along elevational gradients in the Philippines: an assessment of patterns and hypotheses[J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2001, 10(1): 15-39.
- [28] Goodman SM, Andrianarimisa A, Olson LE, et al. Patterns of elevational distribution of birds and small mammals in the humid forests of Montagne d'Ambre, Madagascar[J]. *Ecotropica*, 1996(2): 87-98.
- [29] Sanchez-Cordero V. Elevation gradients of diversity for rodents and bats in Oaxaca, Mexico[J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2001, 10(1): 63-76.
- [30] Rickart EA. Elevational diversity gradients, biogeography and the structure of montane mammal communities in the intermountain region of North America[J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2001, 10(1): 77-100.
- [31] McCain CM. The mid-domain effect applied to elevational gradients: species richness of small mammals in Costa Rica[J]. *Journal of Biogeography*, 2004, 31(1): 19-31.
- [32] Fierer N, McCain CM, Meir P, et al. Microbes do not follow the elevational diversity patterns of plants and animals[J]. *Ecology*, 2011, 92: 797-804.
- [33] 张卫建, 许泉, 王绪奎, 等. 气温上升对草地土壤微生物群落结构的影响[J]. *生态学报*, 2004, 24(8): 1746-1751.
- [34] Chu H, Fierer N, Lauber CL, et al. Soil bacterial diversity in the Arctic is not fundamentally different from that found in other biomes[J]. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(11): 2998-3006.
- [35] Lauber CL, Strickland MS, Bradford MA, et al. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40(9): 2407-2415.
- [36] Lauber CL, Hamady M, Knight R, et al. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(15): 5111-5120.
- [37] Xiong JB, Liu YQ, Lin XG, et al. Geographic distance and pH drive bacterial distribution in alkaline lake sediments across Tibetan Plateau[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(9): 2457-2466.
- [38] Kieft TL, Wilch E, Oconnor K, et al. Survival and phospholipid fatty acid profiles of surface and subsurface bacteria in natural sediment microcosms[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(4): 1531-1542.
- [39] Margesin R, Jud M, Tschlerko D, et al. Microbial communities and activities in alpine and subalpine soils[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 67(2): 208-218.