

香鳞毛蕨不同生境土壤养分与微生物多样性的研究

卜志刚¹, 王琦², 陈玲玲¹, 陶文青¹, 常缨¹

(1. 东北农业大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 石药集团中奇制药技术有限公司, 河北 石家庄 050035)

摘要:以黑龙江省6个香鳞毛蕨主产地(五大连池二池、五大连池三池、老黑山、镜泊湖、民俗村、镜泊峡谷)土壤为试材,利用常规实验室分析法和Biolog-Eco微平板法,研究了黑龙江省香鳞毛蕨产地土壤微生物的群落特征。对土壤养分、多样性指数及不同生境土壤对碳源的利用情况进行分析。结果表明:1)土壤有机质、全氮含量表现为老黑山最低,其他香鳞毛蕨产地间差异不显著;土壤碱解氮含量表现为五大连池三池>五大连池二池>民俗村、老黑山、镜泊湖、镜泊峡谷;土壤全磷含量表现为五大连池三池、五大连池二池最低,其他香鳞毛蕨产地间差异不显著;土壤速效磷含量表现为镜泊湖火山群样地较低,五大连池火山群样地较高;全钾含量表现为镜泊湖、老黑山>五大连池二池、民俗村、镜泊峡谷、五大连池三池;速效钾含量表现为镜泊湖>民俗村>老黑山、镜泊峡谷、五大连池三池>五大连池二池;缓效钾含量表现为老黑山>五大连池三池>五大连池二池>镜泊湖、镜泊峡谷>民俗村;pH介于5.38~6.56,且不同样地pH变化范围较小,变异系数为8.99%。2)各产地的土壤微生物群落功能多样性指数表现为镜泊湖>镜泊峡谷、民俗村>老黑山>五大连池二池、五大连池三池。3)不同香鳞毛蕨产地土壤微生物碳源利用的主成分分析(PCA)表明糖类、氨基酸类、多聚物类、羧酸类、胺类和酚酸类碳源是香鳞毛蕨土壤微生物功能多样性差异的敏感碳源。4)聚类分析表明,五大连池二池和三池的土壤微生物具有相近的碳源利用模式,镜泊湖和镜泊峡谷土壤微生物的碳源利用模式相近,而老黑山和民俗村土壤微生物的碳源利用模式相近。

关键词:香鳞毛蕨;土壤养分;微生物多样性;Biolog-Eco板;主成分分析;聚类分析

中图分类号:S 647.606⁺.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)14-0104-08

香鳞毛蕨(*Dryopteris fragrans* (L.) Schott) 属鳞毛蕨科鳞毛蕨属一种野生的蕨类植物。2010

第一作者简介:卜志刚(1989-),男,内蒙古丰镇人,硕士研究生,研究方向为植物资源学与分子生物学。E-mail: 944131262@qq.com.

责任作者:常缨(1970-),女,黑龙江哈尔滨人,博士,教授,博士生导师,研究方向为植物资源学与分子生物学。E-mail: yingchang1970@yahoo.com.cn.

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(31570189);国家基础科学人才培养基金科研训练资助项目(J1210069)。

收稿日期:2017-03-16

年以来,课题组通过实地考察确定香鳞毛蕨在中国黑龙江省、吉林省、辽宁省有狭小的地理分布区,并对黑龙江省五大连池地区和牡丹江镜泊湖地区的香鳞毛蕨生态环境进行了深入研究。香鳞毛蕨主要活性物质为黄酮类、萜类、多糖类、间苯三酚类等化合物。香鳞毛蕨具有抗炎镇痛的药理作用,对牛皮癣、银屑病、青少年痤疮具有良好疗效。五大连池当地居民广泛地使用香鳞毛蕨水提取物治疗各种皮肤病,民间验方将香鳞毛蕨视为“皮肤病的克星”^[1-2]。近年来,由于人们盲目采收,香鳞毛蕨野生资源遭到严重破坏,因此对香鳞

毛蕨资源的保护研究更具必要性和紧迫性^[3-4]。

土壤作为陆生植物生活的基质,是影响植物生长的重要生态因子之一。土壤既是植物生长、发育、腐烂的地方,又是水和营养物质的贮存场所,土壤条件的优劣直接影响植物的矿质营养、水分以及空气的质量,与植物的生长有着密切的关系。土壤中所含的各种无机元素、有机质对植物的生长发育有很大影响^[5-7]。土壤微生物是土壤中重要的分解者,直接参与土壤中物质的转化,使土壤中的有机质矿质化和腐殖质化。土壤微生物在生命过程中产生一些物质可以促进植物生长,具有增强植物抗病性的作用,例如产生的赤霉素和抗菌素等。此外,土壤中的某些真菌与高等植物的根系形成共生体系,能帮助根系更好的吸收养分、水分。

香鳞毛蕨不同生境的土壤会影响土壤养分的积累、分布与循环,而土壤养分含量又是植被生长的重要影响因子^[8]。土壤中的养分和微生物是植物生长过程中的重要组分。土壤养分含量直接影响植物的生长,土壤微生物则通过分解动植物残体参与植物生长所需的物质循环和能量流动,影响植物的生长发育,为土壤肥力的重要指标之一^[9]。土壤有机质的分解速率受土壤微生物种类、数量和活性的影响。有机质经过微生物的分解还可被植物再次利用,提供植物生长所需的养分,在 C、N 循环过程中具有重要意义^[10]。而且,土壤微生物对植物有效养分具有储备作用,对土壤 C、N 等养分的有效性及其在地上、地下的循环特征方面起着调控作用^[11-12]。

该研究中对黑龙江省香鳞毛蕨不同生境的 2 个分布区的土壤进行 pH 及有机质含量的测定,

并利用 Biolog-Eco 技术对香鳞毛蕨生长地土壤中微生物多样性进行相关调查和研究,通过调查分析香鳞毛蕨不同生境的土壤微生物和土壤养分的变化和差异。探究了不同生境土壤环境对香鳞毛蕨生长的影响,为香鳞毛蕨的引种和栽培提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为黑龙江省五大连池火山群、牡丹江火山群等 6 个不同产地采集的香鳞毛蕨土壤。

1.2 试验方法

1.2.1 样地设置

调查发现香鳞毛蕨长势较好的区域为黑龙江省的五大连池地区和镜泊湖区域。这 2 个区域分别为黑龙江省 2 个不同地质年代形成的火山群,最终确定黑龙江省 2 个具有代表性的样地,即五大连池火山群和代表东部山区的镜泊火山群。根据地质年代的差异五大连池火山群设 3 个样地即二池、三池、老黑山;牡丹江地区设 3 个样地,即镜泊湖、民俗村、镜泊峡谷。

1.2.2 土壤样品采集与处理

于 2015 年 8 月分别在黑龙江省五大连池和牡丹江地区 6 个不同样地(二池、三池、老黑山、镜泊湖、民俗村、镜泊峡谷)采集土壤,由于香鳞毛蕨多生长在火山岩石的缝隙中,地势不平坦,且肥力不均匀,因此采集过程采用蛇形采样法,采集表层土壤(0~20 cm)样品各 6 个,各样地的 6 个样品充分混合均匀后用四分法缩分,室内风干,磨细,过筛备用。香鳞毛蕨土壤样品采集情况见表 1。

表 1 不同产地样品采集信息

Table 1 Accession number and sources of tested materials

序号 No.	地质年代 The age of geological	样品采集地 Sample collection sites	岩石类型 Rock types	土壤样品编号 Number of soil samples
1	第四纪	五大连池二池	碱性玄武岩	W2T
2	第四纪	五大连池三池	碱性玄武岩	W3T
3	第四纪	老黑山	碱性玄武岩	HT
4	第三纪中至第四纪晚	镜泊湖	碧玄岩	JBT
5	第三纪中至第四纪晚	民俗村	碧玄岩	MST
6	第三纪中至第四纪晚	镜泊峡谷	碧玄岩	XGT

1.3 项目测定

1.3.1 土壤样品酸碱性和基本养分测定

土壤碱解氮含量测定采用碱解扩散法,土壤速效钾含量测定采用醋酸铵-火焰光度计法,土壤速效磷含量测定采用碳酸氢钠法,土壤 pH 测定采用 pH 计法,土壤有机质含量测定采用重铬酸钾容量法,土壤全氮含量测定采用重铬酸钾-硫酸消化法,土壤全磷含量测定采用硫酸-高氯酸消煮法,土壤全钾含量测定采用 NaOH 熔融-火焰光度计法^[13]。每个指标 3 次重复测定,取平均值。

1.3.2 土壤微生物多样性测定和计算

Biolog-Eco 微平板每组 31 个孔(即除去对照孔)相对吸光度的平均值,即平均吸光值(Average Well Color Development, AWCD),土壤微生物平均吸光值(AWCD)反映了土壤微生物群落对碳源利用的整体情况,是一种常用的分析样品间微生物群落差异性的方法。其中根据 Biolog-Eco 数据计算得出 AWCD 是评价土壤微生物利用单一碳源能力的一个重要指标,可作为微生物群落整体活性的有效指标来反映微生物对碳源的利用程度^[12],一般认为变化幅度较大的样品具有较高的碳源利用能力,其微生物丰度较高;AWCD 增加越快微生物的代谢活性就越高。

称取 10 g 干燥的新鲜土壤加入到装有 100 mL 灭菌的磷酸缓冲液溶液(K_2HPO_4 11.4 g·L⁻¹, pH 6.0)的 250 mL 三角瓶中,在漩涡振荡机上震荡 3 min;静止 2 min;取 5 mL 上述土壤浸提液加入 45 mL 灭菌的生理盐水中,然后将上述稀释液加入 Biolog-Eco 微平板中,每孔加 150 μ m;将接种的微平板在 25 $^{\circ}$ C 培养,在 24、48、72、96、120、144、168、192 h 读取 595 nm 处吸光值。

参照 GARLAND^[15]方法,计算土壤微生物群落多样性指数,参考杨永华等^[16]和 ZAK 等^[17]方法。按公式(1)计算测试板孔中溶液吸光值平均变化率(average well color development, AWCD);按公式(2)计算 Shannon-Winner 指数 H(用于评估物种的丰富度);按公式(3)计算 Simpson 指数(用于评估某些最常见种的优势度);利用公式(4)计算 Pielou 指数 J(用于评估群落物种均匀度)。

$$AWCD = \sum(C-R)/n \quad (1);$$

$$H = -\sum P_i(\ln P_i) \quad (2);$$

$$D = 1 - \sum P_i^2 \quad (3);$$

$$J = H'/\log S \quad (4)。$$

式中,C 为每个有培养基孔的吸光值,R 为对照孔的吸光值,n 为培养基孔数,Biolog-Eco 板 n 值为 31。 P_i 为第 i 孔的相对吸光值与所有反应孔相对吸光值总和的比值,即 $P_i = (C-R)/\sum(C-R)$ 。 n_i 为第 i 孔的相对吸光值(C-R),N 为所有反应孔相对吸光值的总和 $\sum(C-R)$ 。

1.4 数据分析

采用 Excel 2013 和 SPSS 19.0 软件进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同产地香鳞毛蕨的土壤养分分析

由表 2 可知,不同样地的有机质含量有一定的差异性,表现为镜泊湖、镜泊峡谷、民俗村、五大连池二池、五大连池三池>老黑山,其中以老黑山有机质含量最低,为 13.90 g·kg⁻¹,镜泊湖有机质含量最高,为 19.73 g·kg⁻¹;全氮含量表现为五大连池三池、镜泊湖、民俗村、镜泊峡谷、五大连池二池>老黑山,其最大值为五大连池三池(0.87 g·kg⁻¹),最小值为老黑山(0.64 g·kg⁻¹);碱解氮含量表现为五大连池三池>五大连池二池>民俗村、老黑山、镜泊湖、镜泊峡谷,其最大值为五大连池三池(560.56 mg·kg⁻¹),最小值为镜泊峡谷(373.29 mg·kg⁻¹);全磷和速效磷含量差异性较小,全磷含量表现为镜泊湖、民俗村、镜泊峡谷、老黑山>五大连池三池、五大连池二池,其最大值为镜泊湖(2.08 g·kg⁻¹),最小值为五大连池二池(1.66 g·kg⁻¹);速效磷含量表现为五大连池三池、老黑山、五大连池二池>民俗村、镜泊湖、镜泊峡谷,其最大值为五大连池三池(40.25 mg·kg⁻¹),最小值为镜泊峡谷(29.92 mg·kg⁻¹);全钾含量表现为镜泊湖、老黑山>五大连池二池、民俗村、镜泊峡谷、五大连池三池,其最大值为镜泊湖(24.24 g·kg⁻¹),最小值为五大连池三池(17.38 g·kg⁻¹);速效钾含量表现为镜泊湖>民俗村>老黑山、镜泊峡谷、五大连池三池>五大连池二池,其最大值为镜泊湖(377.60 mg·kg⁻¹),

最小值为五大连池二池(234.07 mg · kg⁻¹);缓效钾含量表现为老黑山>五大连池三池>五大连池二池>镜泊湖、镜泊峡谷>民俗村,其最大值为老黑山(997.35 mg · kg⁻¹),最小值为民俗村(483.19 mg · kg⁻¹);不同样地 pH 变化范围较小,变异系数为 8.99%,pH 表现为老黑山、五大连池三池、五大连池二池、民俗村>镜泊峡谷、镜泊湖,其最大值为老黑山(pH 6.56),最小值为镜泊湖(pH 5.38)。

表 2 不同产地或样地土壤酸碱性和基本养分

Table 2 Different kind of land soil pH and basic nutrients

土壤样品 Sample	有机质含量 Organic matter content/(g · kg ⁻¹)	全氮含量 Total nitrogen content/(g · kg ⁻¹)	碱解氮含量 Available nitrogen content/(mg · kg ⁻¹)	全磷含量 Total phosphorus content/(g · kg ⁻¹)	速效磷含量 Available phosphorus content/(mg · kg ⁻¹)
W2T	18.34±0.76a	0.73±0.11ab	488.68±9.08b	1.66±0.08b	38.43±0.90a
W3T	18.09±3.31ab	0.87±0.11a	560.56±16.84a	1.73±0.14b	40.25±1.77a
HT	13.90±0.80b	0.64±0.04b	384.69±5.54c	1.84±0.48ab	39.21±1.52a
JBT	19.73±1.08a	0.86±0.05a	383.83±10.72c	2.08±0.05a	33.13±1.29b
XGT	18.54±0.92a	0.81±0.09a	373.29±9.96c	1.89±0.20ab	29.92±2.85b
MST	18.37±0.78a	0.82±0.07a	395.49±14.71c	2.06±0.08a	33.66±1.33b
变异系数/%	12.91	13.75	16.77	13.16	11.54

表 2(续)

Table 2(Continued)

土壤样品 Sample	全钾含量 Total potassium content /(g · kg ⁻¹)	速效钾含量 Available potassium content /(mg · kg ⁻¹)	缓效钾含量 Slowly available potassium content/(mg · kg ⁻¹)	pH
W2T	18.07±1.34b	234.07±1.84d	797.27±8.84c	6.62±0.08a
W3T	17.38±2.78b	278.17±11.30c	815.63±5.52b	6.39±0.09a
HT	18.20±4.55ab	288.08±3.05c	997.35±10.76a	6.56±0.08a
JBT	24.24±2.17a	377.60±16.52a	646.12±20.69d	5.38±0.32b
XGT	17.87±4.51b	282.20±20.30c	631.65±17.05d	5.74±0.39b
MST	18.03±1.79b	317.22±4.27b	483.19±3.39e	5.75±0.51ab
变异系数/%	18.89	15.58	23.55	8.99

注:表中数据为测定样品的平均值±标准偏差;同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下同。

Note: Values in the table are means of three replications±standard errors; different lowercase letters represent the significant difference at 5% level in each column. The same below.

2.2 不同产地香鳞毛蕨土壤微生物群落活性分析

五大连池火山群和镜泊火山群土壤微生物平均吸光度(AWCD)分析见图 1,可以看出微生物总体趋势在 24 h 之内活性较低,表明微生物几乎没有代谢碳源,而在培养 24~192 h,AWCD 明显增加,表明微生物进入指数生长期,碳源开始被大量利用。培养 192 h,镜泊湖 AWCD 最大为 1.95,三池 AWCD 最小为 0.90。在整个培养过程中,6 个样地土壤微生物群落的 AWCD 差异比较明显。培养 96 h,镜泊湖>镜泊峡谷、民俗村>老黑山>五大连池二池、五大连池三池,说明镜泊湖样地土壤微生物代谢活性最高(P<0.05)。

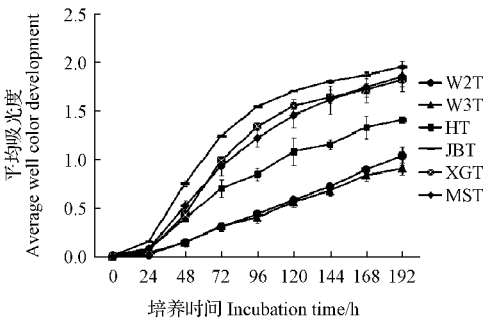


图 1 不同产地土壤微生物 AWCD 变化
Fig. 1 Change of AWCD of different regions of soil microorganisms

2.3 土壤微生物群落的功能多样性指数分析

香鳞毛蕨不同生境土壤微生物群落代谢多样性指数如表 3 所示,与 AWCD 相似,培养 96 h 的 Shannon 指数、Simpson 指数和 Pielou J 指数总体上均表现出相似的规律,即镜泊湖>镜泊峡谷、民俗村>老黑山>五大连池二池、五大连池三池;镜泊湖的 3 类多样性指数值分别为 3.356(Shannon 指数)、0.963(Simpson 指数)、2.251(Pielou J 指数)。

表 3 香鳞毛蕨不同生境土壤微生物群落代谢多样性指数

Table 3 Functional diversity index of soil microbial community

土壤样品	Shannon 指数	Simpson 指数	Pielou J 指数
Sample	Shannon index	Simpson index	Pielou J index
W2T	2.915±0.124d	0.931±0.012d	1.955±0.083e
W3T	3.016±0.096cd	0.936±0.009d	2.022±0.065de
HT	3.169±0.041c	0.952±0.003c	2.125±0.028cd
JBT	3.356±0.003a	0.963±0.000a	2.251±0.002a
XGT	3.273±0.018b	0.958±0.000b	2.195±0.012b
MST	3.229±0.026b	0.955±0.002bc	2.165±0.017bc

2.4 土壤微生物群落功能多样性的主成分分析与聚类分析

采用主成分分析方法(Principal component analyses,PCA)将培养 96 h 土壤微生物的每孔相对吸光值转化为几个主成分,以更好地反映微生物功能特征的变化(表 4)。提取的前 3 个主成分的方差累积贡献率为 88.64%,其中第一主成分(PC1)的方差贡献率为 63.24%,第二主成分(PC2)为 16.04%,第三主成分(PC3)为 9.36%。考察 PCA 的相关性矩阵,与 PC1、PC2 和 PC3 显著相关的碳源,共分布 24 种碳源,对 PC1 贡献大的碳源有 21 种碳源,其中碳水化合物 9 种,氨基酸 5 种,羧酸 2 种,多聚物 3 种,酚酸类和胺类各 1 种;对 PC2 贡献大的碳源有 2 种,分别为氨基酸类和羧酸类;对 PC3 贡献大的碳源仅有 1 种为胺类物质。碳水化合物和氨基酸为香鳞毛蕨土壤微生物群落利用的主要碳源和主成分。

对不同地区的碳源利用情况进行聚类分析,结果如图 2 所示,6 个不同产地香鳞毛蕨的土壤类型被聚为 3 类,五大连池二池和三池被归为一类,镜泊湖和镜泊峡谷被归为一类,老黑山和民俗

表 4 土壤中与 PC1、PC2 和 PC3 显著相关的主要碳源

Table 4 Significant associated main carbon source with PC1,PC2 and PC3 in soil

碳源类型	相关系数
Carbon source type	Correlation coefficient
β-甲基-D-葡萄糖苷(β-Methyl-D-Glucoside)	0.875
D-半乳糖酸-γ-内酯(D-Galactonic acid lactone)	0.828
L-精氨酸(L-Arginine)	0.932
丙酮酸甲酯(Pyruvic acid methyl ester)	0.822
D-木糖(D-Xylose)	0.825
D-半乳糖醛酸(D-Galacturonic acid)	0.964
L-天门冬酰胺(L-Asparagine)	0.894
吐温 80 (Tween 80)	0.828
D-甘露醇(D-Mannitol)	0.836
4-羟基苯甲酸(4-Hydroxybenzoic acid)	0.881
L-丝氨酸(L-Serine)	0.876
α-环糊精(α-Cyclodextrin)	0.803
N-乙酰-D-葡萄糖胺(N-Acetyl-D-Glucosamine)	0.968
L-苏氨酸(L-Threonine)	0.826
肝糖(Glycogen)	0.907
甘氨酸-L-谷氨酸(Glycyl-L-Glutamic acid)	0.858
D-纤维二糖(D-Cellobiose)	0.825
α-D-乳糖(α-D-Lactose)	0.842
D,L-α-磷酸甘油(D,L-α-Glycerol phosphate)	0.838
D-苹果酸(D-Malic acid)	0.897
腐胺(Putrescine)	0.929
2-羟基苯甲酸(2-Hydroxybenzoic acid)	0.836
L-苯基丙氨酸(L-Phenylalanine)	0.804
苯乙胺(Phenylethylamine)	0.832

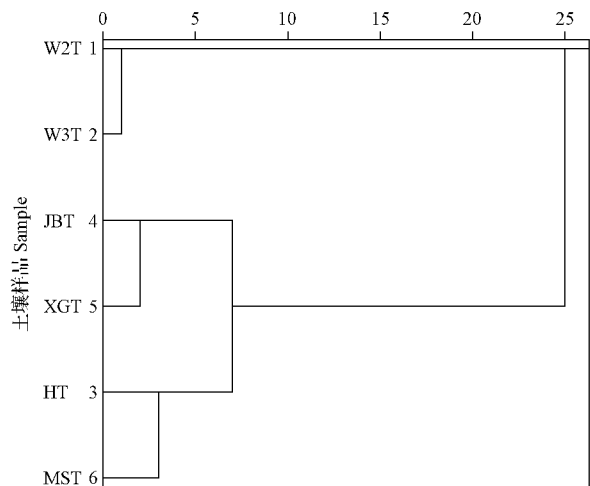


图 2 96 h 土壤微生物碳源利用聚类分析

Fig.2 Cluster analysis of carbon source utilization by soil microbial in 96 hours

村被归为一类。说明五大连池二池和三池的土壤微生物具有相近的碳源利用模式,镜泊湖和镜泊峡谷土壤微生物的碳源利用模式相近,而老黑山和民俗村土壤微生物的碳源利用模式相近。

3 讨论与结论

该研究通过对 2 个主产区土壤中大量元素、pH 及有机质含量测定,结果表明,香鳞毛蕨不同生境的土壤养分含量存在一定的差异。其中有机质和氮含量普遍较低,说明五大连池和镜泊湖地区的肥力比较低,为矿质土壤;而碱解氮、速效磷、缓效钾、速效钾含量普遍较高,这些大量元素为香鳞毛蕨在火山熔岩这种特异生境中生存提供必要营养条件。五大连池火山群和镜泊火山群的岩石成分有很大差异,五大连池岩石主要成分为碱性玄武岩,镜泊地区岩石多为碧玄岩,少数为碱性橄榄玄武岩,岩石成分的不同导致五大连池地区的 pH 接近中性,而镜泊地区则呈现弱酸性;由于 pH 的不同,从而影响元素在土壤中存在的形式,最终影响植物对元素的吸收^[19]。土壤 pH 直接影响矿质盐分的溶解度,从而影响植物养分的有效性,通常土壤 pH 在 6~7 时土壤中养分的有效性为最高且最适宜植物生长。此外土壤的 pH 还会影响微生物的活动,土壤微生物的活力会影响土壤养分进而影响植物的生长。如细菌在酸性土壤中分解作用会减弱,而固氮菌在酸性土壤中不能存活。

该研究对 6 个不同产地香鳞毛蕨土壤微生物最佳培养时间 96 h 的结果显示,镜泊火山群 3 个样地微生物生长差异性不大,五大连池火山群 3 个样地中老黑山微生物群落活性明显高于五大连池二池和三池,这可能由于五大连池二、三池样地多较为裸露的岩石,植被生长较少,而老黑山样地植被物种较为丰富,土壤环境湿润,更适宜微生物生长和繁殖。为今后在该地区利用 Biolog-Eco 法全面开展香鳞毛蕨不同生境土壤微生物功能多样性研究提供了参考依据。该研究结果表明,不同香鳞毛蕨产地的土壤微生物 AWCD 在一定时间内会随培养时间增加而增大,这与吴则焰等^[20]和靳正忠等^[21]的研究结果相同。

土壤微生物的多样性指数的变化可以直接反映出香鳞毛蕨不同生境土壤微生物的生物活性和生长的健康水平^[22]。植物对土壤环境的影响很大,它能够改变土壤微生物群落特征。有相关研究显示土壤微生物群落受周边植物的影响非常大,周边植物种类不同,则土壤微生物群落差异非

常大^[23],对土壤微生物最有显著影响的就是植物的根系^[24],因为土壤微生物的分布与植物根系分泌物息息相关^[25]。因此对土壤微生物、植被和环境三者之间关系的研究,可为研究香鳞毛蕨对不同生境土壤微生物的影响奠定基础,由图 1 和表 3 可知,五大连池火山群老黑山地区土壤微生物的丰富度和均衡度均为最优,而土壤的营养成分却较低,这可能是由于老黑山样地中香鳞毛蕨生长地植被覆盖较为丰富,土壤温度和湿度较适宜微生物生长。虽然老黑山地区香鳞毛蕨生长地较为湿润,香鳞毛蕨根系周围潮湿的土壤较多,但是人为破坏比较严重,严重影响了土壤中有机质的含量;而在五大连池二池和三池其生长地岩石多为裸露的表面基本无覆盖物。因此微生物丰富度较差,各种微生物多样性指标均较低。通过对镜泊火山群微生物多样性指数分析(表 3)显示,镜泊火山群各种微生物多样性指数稍高,说明镜泊湖样地香鳞毛蕨生境较为优越,可能是由于采样点位于镜泊湖湖边,湿度较高,植被覆盖较好,且人为破坏较少。民俗村和镜泊峡谷采样点均为裸露的岩石缝隙,且人为破坏严重。6 个产地香鳞毛蕨土壤微生物群落 AWCD 曲线相比较,镜泊湖火山群的土壤微生物代谢活性较高,而五大连池二池和三池代谢活性较低。4 种土壤微生物多样性指数与 AWCD 表现出相似规律,与向泽宇等^[26]对青海不同林分类型土壤微生物研究结果一致。

土壤微生物碳源利用主成分分析能够体现出香鳞毛蕨不同生境土壤微生物对底物碳源利用情况;进而以主成分得分的聚类分析可以看出香鳞毛蕨不同生境土壤利用碳源的分类信息。由表 4 可以看出,香鳞毛蕨不同生境土壤利用碳源情况不同,其中碳水化合物、多聚物类、氨基酸、羧酸类和胺类为土壤微生物代谢差异的敏感碳源^[27]。6 个香鳞毛蕨产地土壤微生物主成分分析和聚类分析表明,五大连池二池和三池的土壤微生物具有相近的碳源利用模式,镜泊湖和镜泊峡谷土壤微生物的碳源利用模式相近,而老黑山和民俗村土壤微生物的碳源利用模式相近;通过主成分分析能够明确的看到香鳞毛蕨不同生境土壤微生物对碳源利用模式各不相同,能很好地阐明香鳞毛蕨不同生境土壤微生物群落的差异性,香鳞毛蕨不

同生境土壤微生物在敏感碳源方面存在一定的差异,但总体上对土壤微生物群落产生较大影响的碳源主要为氨基酸类、多聚物、羧酸类、酚酸类和胺类,而胺类对香鳞毛蕨不同生境土壤微生物群落产生的影响较小,说明香鳞毛蕨不同生境土壤微生物类群对胺类碳源利用能力较低。HACKL等^[28]和 COX 等^[29]的相关研究表明,细菌和真菌等土壤微生物代谢利用的主要碳源为葡萄糖等单糖、寡糖和氨基酸等一些小分子化合物。香鳞毛蕨不同生境土壤微生物代谢利用的主要碳源为氨基酸类和羧酸类物质,也与该研究结果相似。

总之,香鳞毛蕨不同生境土壤微生物多样性的变化可敏感地反映出当地土壤质量的变化^[30],同时土壤微生物与植物的根系在植物生长过程中相互作用、相互影响^[31]。因而土壤微生物对植物的生长发育具有重要作用。

参考文献

- [1] 常纓. 香鳞毛蕨国内外研究进展[J]. 北方园艺, 2009(4): 113-115.
- [2] 张彦龙, 匡宏枫, 高传军, 等. 香鳞毛蕨挥发油成分的研究[J]. 中草药, 2006, 37(7): 991-992.
- [3] 黄庆阳, 樊锐锋, 袁强, 等. 香鳞毛蕨配子体发育及快速繁殖的研究[J]. 中草药, 2007, 38(10): 1573-1576.
- [4] 黄庆阳, 樊锐锋, 常纓. 香鳞毛蕨种质资源遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 中草药, 2010, 41(6): 971-974.
- [5] 吴庆生, 朱仁斌, 宛志沪, 等. 西洋参有效成分与气候生态因子的研究[J]. 生态学报, 2002, 22(6): 779-782.
- [6] 冯旭芹, 崔明秀, 陈中坚, 等. 三七有效成分与气候生态因子的相关性分析[J]. 中国农业气象, 2006, 27(1): 16-18.
- [7] 牛艳. 宁夏枸杞有机成分及其与生态因子关系的研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2005.
- [8] 姜红梅, 李明治, 王亲, 等. 祁连山东段不同植被下土壤养分状况研究[J]. 水土保持研究, 2011, 18(5): 166-170.
- [9] 许绍远. 中国南方主要混交林类型研究概述[J]. 林业科技开发, 2000, 14(5): 3-6.
- [10] PORAZINSKA D L, BARDGETT R D, BLAAUW M B, et al. Relationship at the aboveground-belowground interface: plants, soil biota, and soil processes[J]. Ecological Monographs, 2003, 73(3): 377-395.
- [11] 何振立. 土壤微生物量及其在养分循环和环境质量评价中的意义[J]. 土壤, 1997(2): 61-69.
- [12] SPEHN E M, JOSHI J, SCHMID B, et al. Plant diversity effects on soil heterotrophic activity in experimental grassland ecosystems[J]. Plant and Soil, 2000, 224(2): 217-230.
- [13] 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.
- [14] GARLAND J L, MILLS A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57(8): 2351-2359.
- [15] GARLAND J L. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization[J]. Soil Biol Biochem, 1996, 28(2): 213-221.
- [16] 杨永华, 华晓梅. 农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 微生物学杂志, 2000(2): 23-25.
- [17] ZAK J C, WILLING M R, MOORHEAD D L, et al. Functional of microbial communities: A quantitative approach[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1994, 26(9): 1101-1108.
- [18] 胡君利, 林先贵, 褚海燕, 等. 种植水稻对古水稻土与现代水稻土微生物功能多样性的影响[J]. 土壤学报, 2007, 44(2): 280-287.
- [19] 常纓, 王晶玉, 王琦. 土壤因子对香鳞毛蕨酚类物质的影响[J]. 东北农业大学学报, 2013, 44(4): 122-126.
- [20] 吴则焰, 林文雄, 陈志芳, 等. 中亚热带森林土壤微生物群落多样性随海拔梯度的变化[J]. 植物生态学报, 2013, 37(5): 397-406.
- [21] 靳正忠, 雷加强, 李生字, 等. 塔里木沙漠公路防护林土壤微生物活性分异特征[J]. 应用生态学报, 2013, 24(9): 2464-2470.
- [22] 王丽娟, 李刚, 赵建宁, 等. 转基因大豆对根际土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(2): 290-298.
- [23] HARCH B D, MEECH C A, PANKHURST C E, et al. Using the Gini coefficient with biologic substrate utilization data to provide an alternative quantitative measure for comparing bacterial soil communities[J]. Journal of Microbiological Methods, 1997, 30(1): 91-101.
- [24] 赵兰凤, 胡伟, 刘小锋, 等. 生物有机肥对香蕉根际土壤生物多样性的影响[J]. 华南农业大学学报, 2013, 34(2): 144-148.
- [25] NAYYAR A, HAMEL C, LAFOND G, et al. Soil microbial quality associated with yield reduction in continuous-pea[J]. Applied Soil Ecology, 2009, 43(1): 115-121.
- [26] 向泽宇, 张莉, 张全发, 等. 青海不同林分类型土壤养分与微生物功能多样性[J]. 林业科学, 2014, 50(4): 22-31.
- [27] 陆松柳, 张辰, 王国华. 碳源强化对人工湿地反硝化过程的影响研究[J]. 环境科学学报, 2011, 31(9): 1949-1954.
- [28] HACKL E, BACHMANN G, ZECHMEISTER-BOLTENSTERN S. Soil microbial biomass and rhizosphere effects in natural forest stands[J]. Phytton, 2000, 40(4): 83-90.
- [29] COX P, WILKINSON S P, ANDERSON J M. Effects of fungal inocula on the decomposition of lignin and structural polysaccharides in *Pinus sylvestris* litter[J]. Biology and Fertility of Soils, 2001, 33(3): 246-251.
- [30] 张瑞, 张贵龙, 陈冬青, 等. 不同施肥对农田土壤微生物功能

多样性的影响[J]. 中国农学通报, 2013, 29(2): 133-139.

物数量及群落功能多样性的影响[J]. 土壤, 2010, 42(2): 230-

[31] 魏媛, 张金池, 俞元春, 等. 退化喀斯特植被恢复对土壤微生物

235.

Study on Soil Nutrients and Microbial Diversity in Different Habitats of *Dryopteris fragrans* L.

BO Zhigang¹, WANG Qi², CHEN Lingling¹, TAO Wenqing¹, CHANG Ying¹

(1. College of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; 2. CSPC Zhongqi Pharmaceutical Technology (Shijiazhuang) Co. Ltd., Shijiazhuang, Hebei 050035)

Abstract: The six soil samples from the main *Dryopteris fragrans* producing areas of Heilongjiang Province (the second pool of Wudalianchi, the third pool of Wudalianchi, Laoheishan Volcano, Jingpo Lake, Folk Village, Jingbo Canyon) were studied using routine laboratory analysis and Biolog-Eco micro plate method to the characteristics of soil microbial communities. The soil nutrients, diversity index and the utilization of carbon sources in different habitats were analyzed. The results showed that: 1) the soil organic matter content showed that Laoheishan Volcano was the lowest and there was no significant differences among other *D. fragrans* producing areas; the soil alkali hydrolyzable nitrogen content showed that the third pool of Wudalianchi > the second pool of Wudalianchi > Folk Village, Laoheishan Volcano, Jingpo Lake and Jingbo Canyon; the soil phosphorus content showed that the second and third pool of Wudalianchi was the lowest and there was no significant differences among other *D. fragrans* producing areas; the soil available phosphorus content showed that Jingpo Lake Volcano Group plots were lower and the Wudalianchi Volcano Group plots were higher; the total potassium content showed that Jingpo Lake and Laoheishan Volcano > the second pool of Wudalianchi, three pool, Folk Village and Jingbo Canyon; the available potassium content showed that Jingpo Lake > Folk Village > Laoheishan Volcano, Jingbo Canyon and the third pool of Wudalianchi > the second pool of Wudalianchi; the slowly available potassium content showed that Laoheishan Volcano > the third pool of Wudalianchi > the second pool of Wudalianchi > Jingpo Lake and Jingbo Canyon > Folk Village; the pH value among these *D. fragrans* producing areas ranged from 5.38 to 6.56, and the variation range was not the same, and the variation coefficient was 8.99. 2) the soil microbial community functional diversity index of different places showed that Jingpo Lake > Jingbo Canyon and Folk Village > Laoheishan Volcano > the second and third pool of Wudalianchi. 3) the principal component analysis (PCA) of soil microbial carbon source utilization in different *D. fragrans* producing areas showed that sugars, amino acids, polymers, carboxylic acids, amines and phenolic acids were the sensitive carbon source of *D. fragrans* soil microbial functional diversity. 4) the cluster analysis showed that soil microorganism carbon source utilization model was similar between second and third pool of Wudalianchi and it was also similar between Jingpo Lake and Jingbo Canyon, and between Laoheishan Volcano and Folk Village.

Keywords: *Dryopteris fragrans* L.; soil nutrients; microbial diversity; Biolog-Eco plate; principal component analysis; cluster analysis