

大兴安岭火烧迹地土壤真菌群落结构及多样性研究

张 虹, 嵒 嵘

(内蒙古师范大学 生命科学与技术学院, 内蒙古 呼和浩特 010022)

摘 要:以大兴安岭火烧迹地不同火烧年和不同火烧程度的土样为研究对象,揭示大兴安岭火烧迹地恢复过程中土壤真菌的多样性与群落变化特征,为火烧后森林生态系统的科学管理和森林更新提供理论依据。用 PCR-DGGE 法对土壤真菌进行了分析,采用 Quantity one 软件分析其多样性,通过序列的同源性比较构建系统发育树,真菌结构主成分分析采用 Canoco 等软件。结果表明:每个样品真菌种类丰富,不同样品有相同的真菌菌属也有不同的真菌菌属,17 个优势条带测序所得菌属与黏滑菇属(*Hebeloma*)、蜡伞属(*Hygrophorus*)、蜡壳菌属(*Sebacina*)、管柄囊霉属(*Funnelliformis*)亲缘关系最近,其中还有一些不可培养的真菌。不同火烧年和火烧程度之间土样真菌香农指数、丰富度、均匀度均达到显著差异($P < 0.05$)。不同火烧程度、不同火烧年均能影响土壤真菌的群落结构。

关键词:大兴安岭;火烧迹地;土壤真菌;群落结构;多样性

中图分类号:S 718.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)10-0159-08

大兴安岭是我国唯一的寒温带地区,茫茫林海成为松嫩平原和呼伦贝尔草原的天然屏障,它为保护我国生态平衡起着重要作用,但兴安落叶松林因其冠层结构的特性使其林下易于堆积大量可燃物,同时又由于该地区受大陆性季风气候的影响,春秋两季干旱少雨,而导致森林火灾发生率较高,居全国之首^[1],林火已经对该区生态系统结构和功能产生了重要影响^[2]。

土壤微生物是森林生态系统的分解者,是土壤中物质转化和养分循环的驱动力。土壤是微生物生活的良好场所,微生物积极参与土壤物质转化过程,其在土壤形成、有毒物质降解及净化等方面有其重要作用^[3],而且与土壤动物之间也存在着十分密切的联系^[4]。土壤微生物(主要是细菌和真菌)根系共

生不仅能增加植物对养分的吸收和利用,而且直接或间接影响植物生长,因而在构建和维持土壤结构,促进土壤养分循环及植被演替等方面起着重要作用^[5],因此被认为是陆地生态系统植物多样性和生产力的重要驱动力^[6]。土壤真菌在推动土壤物质转换、能量流动和生物转化循环中均起着重要的作用^[7],而且可作为检测土壤质量变化的敏感指标,其多样性在评价生态系统功能,维护生态平衡中发挥着重要作用^[8]。

火烧迹地的植被如何快速更新和恢复不仅是该地区重要的生态问题,更与当地经济可持续发展有密切联系。目前大兴安岭林区森林火烧迹地的研究主要集中于火烧对地上植被的影响,如改变地上植物区系的组成^[9]、促进树木的再生^[10]、增加木材的产量等,而对森林火灾引起的土壤微生物群落的研究较少。因此,该试验以内蒙古大兴安岭高纬度多年冻土林区不同火烧年(2003、2008、2012 年)和不同火烧程度(轻度和重度火烧)的火烧迹地为研究对象,探究各类土壤真菌的动态变化规律,及对不同程度林火扰动后的响应,深入理解不同程度火烧迹地森林土壤性质尤其是土壤微生物学特性的变化特性,以有助于对森林生态系统进行管理,包括树种的选

第一作者简介:张虹(1992-),女,硕士研究生,研究方向为菌根生物技术。E-mail:zhanghong09.27@qq.com.

责任作者:嵒嵘(1971-),女,博士,副教授,硕士生导师,现主要从事菌根生物技术等研究工作。E-mail:zhengrong09@163.com.

基金项目:内蒙古自治区科技计划资助项目(20130435)。

收稿日期:2017-03-03

择、侵蚀控制以及其它干预措施等火烧后管理决策的制定^[11]等,为火烧后森林生态系统的科学管理和森林更新提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

依据根河林业局防火办的火灾记录和森林调查大队的小班信息,以火灾前立地条件、植被类型相似等条件作为筛选条件,选择 2003、2008、2012 年 3 个火烧迹地作为研究区。其中 2003、2008 年火烧迹地位于根河市潮查林场,2012 年火烧迹地位于汗马国家级自然保护区,两地相距 107 km。因此,在研究区

的选择过程中,为了能够对比火烧迹地与未过火区的差异,在 2003、2008 年火烧迹地设置了一个未过火区作为公用的对照区,而在 2012 年火烧迹地单独设置了未过火区作为 2012 年火烧迹地的对照区。在样地的选择和设置过程中,为了减少其它因素的干扰,样地均选取阴坡 10°~18°坡度和 700~770 m 范围的海拔高度及相同植被类型的区域。在每个年度的火烧迹地中,依据乔木成活率作为火烧程度划分指标,选择轻度(>60%)和重度火烧迹地(<30%),共划分 8 个试验样地(20 m×20 m),样地划分如表 1。

表 1
Table 1
样地划分
Experimental plots division

研究区 Research area	样地 Sample plot	海拔 Altitude/m	坡度 Slope/(°)	坡向 Aspect	乔木死亡率/ Tree mortality/%	植被类型 Vegetation type
根河潮查林场 The forest farm of intertial zone Gen He	CK1	710	15	阴坡	0	兴安落叶松-草类
	2003 年轻度	709	15	阴坡	21	兴安落叶松-草类
	2003 年重度	708	15	阴坡	63	兴安落叶松-草类
	2008 年轻度	760	18	阴坡	30	兴安落叶松-草类
	2008 年重度	764	18	阴坡	76	兴安落叶松-草类
汗马自然保护区 Han Ma Nature Reserve	CK2	740	10	阴坡	0	兴安落叶松-草类
	2012 年轻度	743	10	阴坡	25	兴安落叶松-草类
	2012 年重度	747	10	阴坡	68	兴安落叶松-草类

1.2 试验方法

于 2013 年 7 月采用土钻法在每个样地‘S’型钻取 0~15 cm 混合土样,每个样地取土 3 次,分别装入自封袋中并做好标记,在低温泡沫箱内保存并运回实验室。

1.3 项目测定

1.3.1 土壤生化指标测定 碳氮含量、脲酶蔗糖酶活性测定方法参照文献[12]。

1.3.2 土壤总 DNA 提取及 18S rDNA 高变区扩增

采用 Soil Gen DNA Kit 提取试剂盒提取 DNA,将提取 DNA 在 0.8%琼脂糖凝胶中电泳检测。电压为 80 V,电泳 1 h。以土壤样品微生物基因组 DNA 为模板,采用真菌通用引物 FR1(AICCATTCATTCG-GTAIT)和 FF390(CGATAACGAACGAGACCT)扩增样品 18S rDNA 高变区序列。PCR 扩增体系(25 μL): 10×Ex Taq buffer 2.5 μL;dNTP(2.5 mmol·L⁻¹) 2 μL;Ex Taq Polymerase(5 U·μL⁻¹)0.25 μL;GC-FR1(10 mmol·L⁻¹)1 μL;FF390(10 mmol·L⁻¹)1 μL;模板 DNA 50 ng;补 ddH₂O 至 25 μL。PCR 扩增程序:94℃预变性 5 min;94℃变性 30 min,50℃复性 30 s,72℃延伸 1 min,35 个循环;最终 72℃延伸 10 min。

1.3.3 DGGE 分析 取上述 PCR 产物 10 μL 进行

变性梯度凝胶电泳(DGGE)。聚丙烯酰胺凝胶(化学变性剂为 100%尿素 7 mol·L⁻¹和 40%(v/v)丙烯酰胺)浓度为 8%,变形梯度为 35%~55%。在 1×TAE 缓冲液中 150 V、60℃下电泳 5 h,采用银染法染色。

1.3.4 优势条带测序 DGGE 指纹图中每个条带代表某个微生物菌群。从 DGGE 指纹图选出明亮清晰的条带作为优势条带,切胶回收、纯化,与 pGM-T(TIANGEN 公司)载体连接,转化大肠杆菌 DH5α感受态细胞。蓝白斑筛选法挑选阳性克隆后培养,PCR 检测重组子,将阳性克隆的菌液送往上海生工生物工程有限公司测序。

1.4 数据分析

采用 SPSS 对真菌特性的数据进行方差分析,对 DGGE 图谱中条带的位置和强度采用 Quantity one 软件进行数字化处理分析,根据条带的位置和强度计算出 Shannon 多样性指数(H)、丰富度(S)、均匀度指数(E_H)以用评价真菌多样性的变化,计算公式为 $H = -\sum P_i \ln P_i$ 、 $E_H = H / \ln S$ 。其中 $P_i = n_i / N$, n_i 是第 i 条带的强度, N 为样品中的条带总数; S 为丰富度,即每一泳道的条带数量。真菌结构主成分分析(Principal component analysis, PCA)参照 Ogino 的方法采用 Canoco 等软件。根据 18S rDNA 基因序

列,使用 MEGA 5 软件邻接法(neighbor-joining, N-J 法)运算 1 000 次构建系统进化树,用自展法(Bootstraping)对进化树进行评估。

2 结果与分析

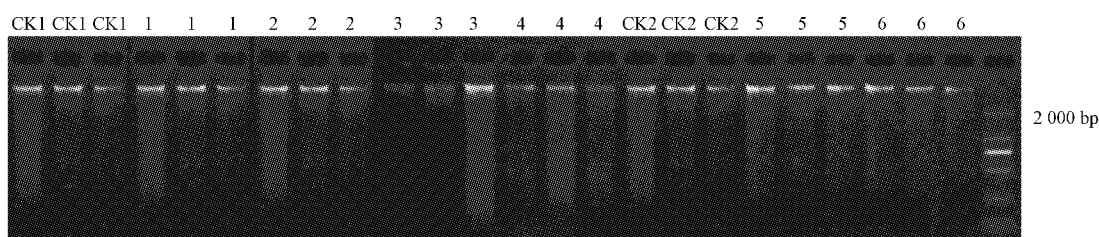
2.1 土壤的理化指标

火烧后土壤微生物生物量碳氮含量下降,土壤过氧化氢酶活性提高,土壤脲酶和土壤蔗糖酶活性下降。不同年的火烧迹地土壤微生物生物量碳氮,土壤脲酶活性和土壤蔗糖酶活性均极显著下降,其中重度火烧迹地的均达到显著或极显著水平。除了土壤脲酶活性外,轻度火烧迹地 2003 年显著或极

显著高于 2008、2012 年。随着火烧后恢复年限的增长,土壤微生物生物量碳氮、土壤脲酶活性和土壤蔗糖酶活性均有所提高,并达到了未过火对照组水平。轻度火烧迹地过氧化氢酶恢复较快,在火烧后第 1 年就恢复到了未过火对照组的水平,而其它分别在第 5、10 年才恢复到未过火对照组水平^[12]。

2.2 土壤总 DNA 提取及 PCR 扩增结果

2.2.1 DNA 的提取 由图 1 可以看出,从土壤样品中提取的 DNA 浓度、纯度均适宜,可以进行下一步的 PCR 扩增。



注:CK1、CK2:对照;1、3、5:2003、2008、2012 年轻度火烧地样品;2、4、6:2003、2008、2012 年重度火烧地样品;M:Marker D 2 000,下同。

Note: CK1, CK2, control; 1, 3, 5, light burned land samples in 2003, 2008, 2012; 2, 4, 6, severe burned land samples in 2003, 2008, 2012; M, Marker D 2 000, the same below.

图 1 大兴安岭火烧迹地土壤 DNA 琼脂糖凝胶电泳

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of soil DNA at burned forest sites for the Great Xingan

2.2.2 18S rDNA 高变区 PCR 扩增 对土壤样品 DNA 进行真菌 18S rDNA 高变区片段的 PCR 扩增,电泳结果如图 2。可知不同火烧迹地土壤样品真菌

的 PCR 均很好地扩增出目标产物,参照标准分子量,PCR 产物片段大小在 250~500 bp,表明获得了目的产物,可进行下一步的 DGGE 电泳分析。

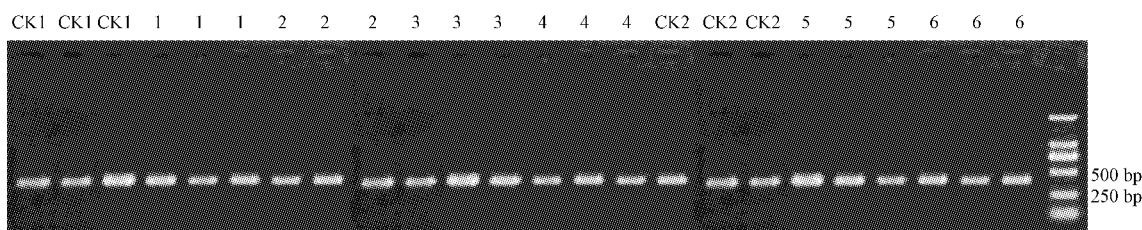


图 2 18S rDNA 高变区 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳

Fig. 2 Agarose gel electrophoresis of PCR amplification products for hypervariable region of 18S rDNA

2.3 真菌多样性分析

2.3.1 DGGE 图谱分析 对上述 PCR 扩增产物进行 DGGE 分析,结果如图 3。从 DGGE 凝胶中切割分离主要条带,PCR-DGGE 指纹图谱可以看出,8 个样品中,每个样品的条带数在 6~25,表征着有丰富的真菌类群,说明各土壤真菌种类较为丰富。样品间条带的数目、迁移位置和亮度有所不同,不同迁移位置的条带代表着不同的真菌种群。从中分离出 17 个较亮清晰的条带为优势条带,亮度越大表示该条

带的真菌数量越多,如第 1 个泳道的条带 F1,第 22 个泳道的条带 F17,这 2 个条带最亮,说明这 2 个条带真菌数量最多。采用 Quantity one 软件分析图谱,可知在不同样地之间有其共有条带,也有其特有条带。第 5 个泳道和第 19 个泳道都有条带 F2,说明土样中存在相同的真菌种属且真菌多样性组成相对稳定,条带 F7、F8、F9 等为特有条带,说明其所含菌种属不同。

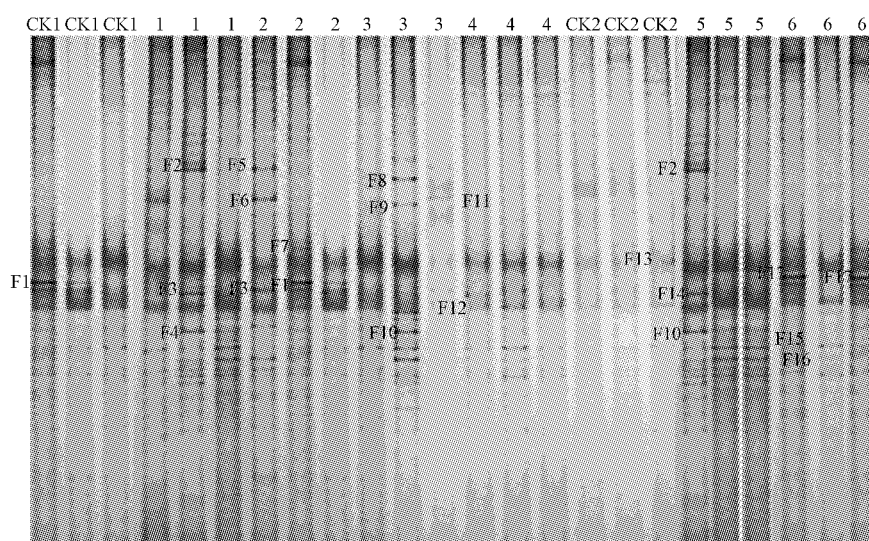


图 3 不同样地的土壤真菌 DGGE 指纹图

Fig. 3 DGGE map of soil fungus in different sample areas

2.3.2 多样性指数分析 根据 DGGE 电泳图谱中条带的强度和数量,用 SPSS 软件对不同年和不同火烧程度下的真菌香农指数、丰富度、均匀度进行单因素方差分析,结果见表 2~4。由表 2 可知,2003、2012 年重度火烧迹地与对照、轻度火烧迹地真菌香农指数之间有显著差异($P<0.05$),而 2008 年火烧迹地香农指数在不同火烧程度之间无显著差异。轻

表 2 土壤真菌在不同火烧年和火烧程度的香农指数

Table 2 Soil fungal Shannon index in the different burned year and burned degree

火烧程度 Burned degree	年份 Year		
	2003	2008	2012
轻度 Light	2.26±0.08Bb	1.81±0.04Ac	2.28±0.16Ba
重度 Heavy	3.39±0.05Aa	2.22±0.06Ab	3.47±0.10Ab
对照 CK	2.05±0.23Ba	2.05±0.23Aa	2.25±0.15Ba

注:大写字母表示不同火烧程度样品间的差异显著性水平($P<0.05$),小写字母表示不同的火烧年样品间的显著性水平($P<0.05$),下同。

Note: Capital letters show significant level of different burned degree among samples($P<0.05$), lowercase letters show significant level of different burned years among samples($P<0.05$), the same below.

表 3 土壤真菌在不同火烧年和火烧程度的丰富度

Table 3 Soil fungal richness in the different burned year and burned degree

火烧程度 Burned degree	年份 Year		
	2003	2008	2012
轻度 Light	20.00Bb	15.00Bb	55.00±2.52Aa
重度 Heavy	24.33±2.33Ba	24.33±2.33Ac	27.67±4.41Bb
对照 CK	55.67±0.88Aa	20.67±0.88Aa	28.33±2.60Ba

表 4 土壤真菌在不同火烧年和火烧程度的均匀度

Table 4 Soil fungal evenness in the different burned year and burned degree

火烧程度 Burned degree	年份 Year		
	2003	2008	2012
轻度 Light	0.985 1±0.000 6Cb	0.986 6±0.000 6Bb	0.992 4±0.000 8Aa
重度 Heavy	0.990 7±0.000 7Ba	0.990 7±0.000 7Ab	0.991 9±0.000 4Aa
对照 CK	0.993 3±0.000 1Aa	0.986 8±0.000 3Ba	0.993 1±0.000 4Aa

度火烧迹地样品在不同火烧年间均有显著差异($P<0.05$),重度火烧迹地 2008、2012 年与 2003 年差异显著($P<0.05$)。由表 3 可以看出,2003 年轻度、重度火烧迹地真菌丰富度均与对照之间有显著差异($P<0.05$),而二者间差异不显著。2008、2012 年轻度火烧迹地真菌丰富度与对照之间存在显著差异($P<0.05$),而重度火烧与对照无显著差异。轻度火烧迹地中 2012 年与 2003、2008 年真菌丰富度有显著差异($P<0.05$),后二者间无显著差异。重度火烧迹地真菌丰富度在不同年之间存在显著差异($P<0.05$)。由表 4 可以得出,2003 年重度、轻度火烧迹地真菌丰富度与对照间均存在显著差异($P<0.05$),且二者间也存在显著差异($P<0.05$)。2008 年重度火烧迹地真菌均匀度显著高于轻度和对照的值($P<0.05$),而后二者间无显著差异。2012 年火烧迹地均匀度在不同火烧程度之间无显著差异。轻度火烧迹地 2012 年与 2003、2008 年真菌均匀度有显著差异($P<0.05$),而 2003、2008 年无显著差异。重度火烧迹地 2008 年真菌均匀度与 2003、2012 年有显著差异($P<$

0.05),而后二者间无显著差异。

2.3.3 系统进化树 根据 17 个优势条带序列,在 GenBank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)数据库中进行 Blast 搜索,选取相似度较大的 15 个同源序列(其中包含 7 个不可培养的真菌)作为参考序列。使用 MEGA5 软件邻接法(neighbor-joining, N-J 法)对测序所得出的 17 个 18S rDNA 序列及上述 GenBank 数据库中搜索出的 15 个最相似菌种的已知序列构建系统发育树(图 4)。由图 4 可知,系统发育树中总共分为 2 支。在第一分支中,F2、F13、F5

与黏滑菇属(*Hebeloma*)、F4 与蜡伞属(*Hygrophorus*)、F15 与蜡壳菌属(*Sebacina*)分别聚为一支,在另一分支中 F7 与管柄囊霉属(*Funnelformis*)聚为一支,说明其亲缘关系较最近,它们的相似性在 89%~100%,而其它一些样品(F12、F6、F1、F10、F11、F16、F9)与不同的不可培养的真菌 Uncultured mycorrhizal fungus、Uncultured soil fungus、Uncultured Chaetothyriales、Uncultured Glomeromycota、Uncultured Glomus 聚在一起。

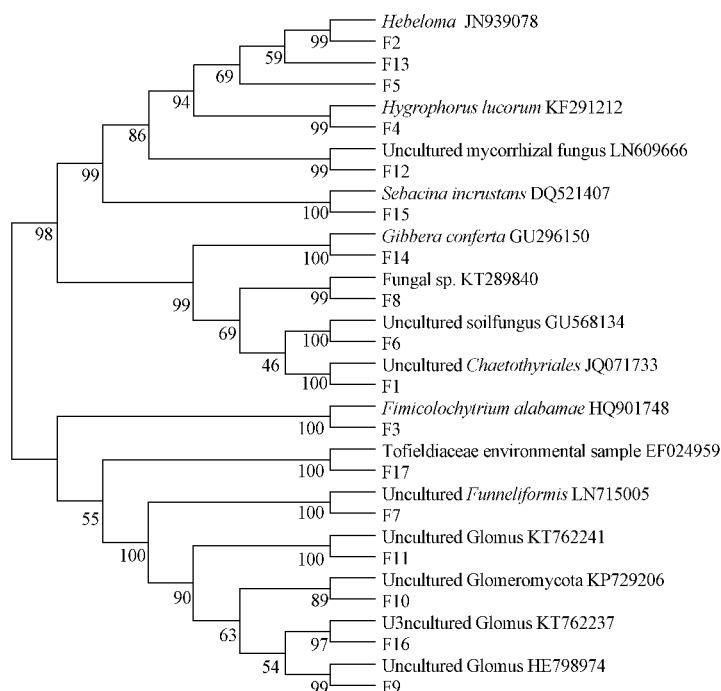


图 4 17 条 DGGE 序列与其近缘种的系统发育树

Fig. 4 Evolutionary tree of seventeen DGGE sequences and some relative species of fungus

2.3.4 主成分分析 由图 5 可知,第 1 主成分(PC1)聚集了 32.2%的数据变异,第 2 主成分(PC2)聚集了 23.6%的数据变异。同年的轻度和重度火烧迹地样品相距较远,说明不同火烧程度之间分异显著。对照样地分布在 PC1 负方向,火烧迹地样品与对照样地的分异显著。不同年的火烧迹地样品相距较远,说明不同年的火烧迹地间真菌结构变化不同。主成分分析结果表明,与对照相比,火烧对土壤真菌结构有一定的影响,不同火烧年和不同火烧程度土壤真菌结构差异较大。

3 讨论

由 DGGE 图谱分析结果表明,不同土样的富集菌群组成差异比较大,除对照 2 只有 1 条明显的条

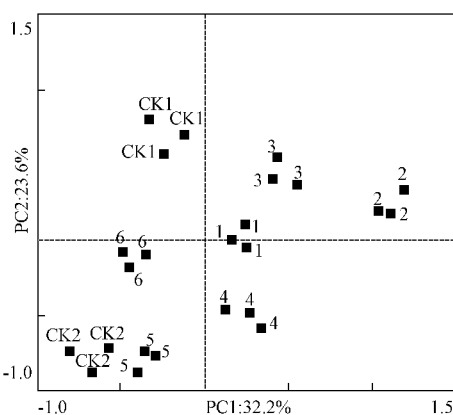


图 5 DGGE 指纹图谱的主成分分析

Fig. 5 Principal component analysis of DGGE profiles

带外,其它的样品的富集菌群多样性均比较高,不同的条带清晰度、亮度不同,其所含的菌种数也不同。条带越亮的所含菌种数量越多,且不同的样品之间有同源条带,表明不同样品间存在相似菌种,与张敏等^[13]用 DGGE 图谱分析小麦农林复合生态系统土壤真菌的研究结果一致。DGGE 技术以基因组 DNA 为研究对象,能够直接的反映土壤微生物群体的多样性,这一技术可以绕过传统的纯培养方法繁琐的试验操作,但也有难以避免的缺陷。VAL-LAEYS 等^[14]发现,DGGE 能将具有多操纵子的真菌在 PCR 过程中形成的不同序列分离开,从而过高的估计环境中的微生物多样性。DGGE 只能检测到占整个群落真菌数量约 1% 以上的类群,对数量较少的种群敏感度不高^[15]。由于 PCR-DGGE^[16]技术采用高变区 PCR 产物进行微生物组成分析,只能反映土壤菌群中的优势菌群,而弱势菌群则不能检测到,存在高估物种丰度以及低估微生物群落大小和多样性的可能,因此还需采用更为全面和准确的其它分子生物学手段,如高通量测序等进行深入研究。

土壤微生物多样性指数是评价火烧后土壤恢复程度的一个重要指标。因此,要想了解土壤的恢复水平可以对土壤中微生物香农指数、丰富度、均匀度进行测定。真菌多样性分析结果显示,不同火烧程度土样真菌与对照之间存在显著差异,说明火烧与否影响真菌的多样性;不同火烧程度间的真菌香农指数、丰富度、均匀度也存在显著差异($P < 0.05$),说明不同火烧程度对真菌的多样性的影响不同。重度火烧迹地真菌样品 3 种指数显著高于轻度火烧,这与张敏等^[17]对大兴安岭火烧迹地土壤进行了微生物数量测定结果一致。但也有个别重度火烧下真菌香农指数、丰富度、均匀度低于对照与轻度火烧,原因可能是在连年火烧迹地上,真菌数量有增加的趋势。但在高强度火干扰下,森林环境变化剧烈,大量的火前植被被烧死,缺乏森林更新所需要的种源^[18],而且高强度火干扰下土壤层损耗严重。

在不同火烧年间,2003 年真菌香农指数、丰富度、均匀度与 2008、2012 年有显著差异($P < 0.05$),说明不同火烧年火烧迹地样品间真菌多样性变化不同,且可得出 2003 年样品香农指数、丰富度、均匀度与对照的差异不显著,表明随着时间的延长,火烧迹地土壤真菌多样性指数又恢复到火烧前的水平。这与以往学者^[19-20]观点一致,究其原因可能与大兴安岭地区的生态环境有关,该区生态环境脆弱,土壤层很薄^[21-22],在中低度火干扰的影响下,大部分地被物

和有机层分解于土壤中,从而使土壤真菌丰富度增加,但同时随着时间推移,地上植被逐渐恢复,而凋落物也会逐渐增加,加速了土壤微生物的恢复速度,利于幼苗更新^[23],土壤渐渐恢复到没火烧的状态。而 2012 年不同火烧程度均匀度也与对照之间无显著差异,究其原因可能与自然环境、样品采集、及运输过程中温度等的影响有关。在火烧迹地恢复初期多样性指数高,而随着时间的推移,多样性指数有下降的趋势,其可能因为刚过火后土壤暴露在阳光下,有机物碳化利于真菌繁殖进而使真菌多样性指数增加。

该研究构建的系统发育树中 17 条优势条带与黏滑菇属(*Hebeloma*)、蜡伞属(*Hugrophorus*)、蜡壳菌属(*Sebacima*)、管柄囊霉属(*Funnelliformis*)四大属亲缘关系最近,表明 17 个优势群中包含这 4 个属。其中黏滑菇属、蜡伞属、蜡壳菌属与管柄囊霉属分别聚在不同的分枝上,说明前三者与后者亲缘关系相对远。17 个优势群中还包含一些不可培养的真菌,现阶段还不知道这些不可培养细菌具体分类地位,但在区分亲缘关系较远的物种时具有一定的参考价值,对具较近亲缘关系的物种则无法做出精确衡量。土壤真菌有着形态、基因以及功能上的多样性,且无法在地理上划分界限,因此,完善的物种发育树有待于今后更多基因的和系统进化分析方法的改进。

主成分分析表明,不同的火烧年、不同火烧程度均影响土壤真菌群落结构。火烧是导致火烧样地与对照样地真菌结构差异的主要因素,分析其原因主要与土壤的理化指标有关,火烧后土壤生物量碳氮下降,土壤脲酶与蔗糖酶活性下降。且不同年的火烧迹地这些指标也显著下降,而重度火烧迹地极显著下降,从而导致其群落结构的改变。这与 IAN 等^[24]研究结果相似,其采用 ITS-T-RFLP 法研究反复的有计划的火烧对土壤中担子菌群落的变化,发现火烧没有改变担子菌的物种丰富度,但是改变了群落结构。但随着火烧后恢复年限的增长不同火烧年限与不同火烧样地的土壤生物量碳氮,土壤脲酶、蔗糖酶活性逐渐提高,从而使群落结构逐渐恢复,其相距也越近。近年来,分子生物学技术与方法的出现使土壤真菌群落结构可以得到更全面、快速的检测。火烧可以加速有机物质归还土地同时减少病害,但也影响表层土壤真菌组成。BASTIAS 等^[25]发现,不同的火烧处理方式与非火烧样地相比明显改变了表层土的土壤真菌群落结构,4 年 1 次与 2 年

1次火烧相比土壤真菌差异较大,原因很可能是土壤C/N值明显不同引起的。

4 结论

每个土壤样品真菌种类丰富,不同样品有相同的真菌菌属也有不同的真菌菌属,17个优势条带测序所得菌属与黏滑菇属(*Hebeloma*)、蜡伞属(*Hygrophorus*)、蜡壳菌属(*Sebacina*)、管柄囊霉属(*Funneli formis*)亲缘关系最近,其中还有一些不可培养的真菌。大兴安岭不同火烧年和火烧程度之间土样真菌香农指数、丰富度、均匀度均达到显著差异($P < 0.05$),不同火烧程度、不同火烧年均影响土壤真菌的群落结构。

参考文献

- [1] 张艳平. 黑龙江大兴安岭地区气候变化对森林火灾影响的研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2008.
- [2] 王丽红,辛颖,赵雨森,等. 大兴安岭火烧迹地在植被恢复中土壤微生物生物量和酶活性[J]. 水土保持学报,2015,29(3):185-189.
- [3] 胡宇,蒋先军,田波,等. 稻田垄作免耕对土壤真菌多样性分布的影响[J]. 土壤,2007,39(6):964-967.
- [4] 郝桂玉,黄民生,徐亚同. 蚯蚓及其在生态环境保护中的应用[J]. 环境科学研究,2004,17(3):75-77.
- [5] PAUL E A. Soil microbiology, ecology and biochemistry[M]. New York: Academic Press, 2014.
- [6] HEIDJEN M G A, BARDGETT R D, STRAALLEN N M, et al. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems[J]. Ecology Letters, 2008, 11(3): 296-310.
- [7] 孙龙燕,李士美,李伟,等. 林火对植物根围丛枝菌根真菌多样性的影响[J]. 生态学报,2016,36(10):2833-2841.
- [8] 阮晓东,张惠文,孙冬雪,等. 油松阔叶混交林不同层次优势植被根区土壤真菌的群落结构[J]. 东北林业大学学报,2009,37(5):48-50.
- [9] CERTINI G. Effects of fire on properties of forest soils: a review[J]. Oecologia, 2005, 143(1): 1-10.
- [10] 许鹏波,屈明,薛立. 火对森林土壤的影响[J]. 生态学杂志, 2013, 32(6): 1596-1606.
- [11] KARA O, BOLAT I. Short-term effects of wildfire on microbial biomass and abundance in black pine plantation soils in Turkey[J]. Ecological Indicators, 2009, 9(6): 1151-1155.
- [12] 宝日玛,嵯峨,周梅,等. 大兴安岭火烧迹地土壤微生物生物量及酶活性研究[J]. 内蒙古农业大学学报, 2016, 37(4): 78-82.
- [13] 张敏,周鹏,季永华. 苦楝-小麦农林复合生态系统土壤真菌群落结构分析[J]. 林业科学, 2015, 51(10): 26-34.
- [14] VALLAEYS T, TOPP E, MUYZER G, et al. Evaluation of denaturing gradient gel electrophoresis in the detection of 16S rDNA sequence variation in rhizobia and methanotrophs[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1997, 24(3): 279-285.
- [15] MUYZER G, WAAL E C, UITTERLINDEN A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(3): 695-700.
- [16] 金海林. DGGE技术在人参重茬地土壤微生物多样性分析中的应用研究[D]. 延吉:延边大学,2010.
- [17] 张敏,胡海清. 林火对土壤微生物的影响[J]. 东北林业大学学报, 2002, 30(4): 44-46.
- [18] 尚玉昌. 普通生态学[M]. 北京:北京大学出版社,2010.
- [19] 芦雪妍,崔晓阳. 大兴安岭森林火烧对土壤生境质量影响研究[J]. 中国农业资源与区划, 2016, 37(2): 76-78.
- [20] MONLEON V J, CROMACK J K, LANDSBERG J D. Short-and long-term effects of prescribed underburning on nitrogen availability in ponderosa pine stands in central Oregon[J]. Canadian Journal of Forest Research, 1997, 27(3): 369-378.
- [21] 周润青,刘晓东,张思玉,等. 不同火烧时间对杉木人工林土壤性质的影响[J]. 西北林学院学报, 2016(3): 36-40.
- [22] 孙家宝,胡海清. 大兴安岭兴安落叶松林火烧迹地群落演替状况[J]. 东北大学学报, 2010, 38(5): 30-33.
- [23] CULTER D R, EDWARDS T C, BEARD K H, et al. Random forests for classification in ecology[J]. Ecology, 2007, 88(11): 2783-2792.
- [24] IAN C A, BRIGITTE A B, DAVID R G. Asidiomycete fungal communities in Australian sclerophyll forest soil are altered by repeated prescribed burning[J]. Mycological Research, 2007, 111(4): 482-486.
- [25] BASTIAS B A, HUANG Z Q, BLUMFIELD T, et al. Influence of repeated prescribed burning on the soil fungal community in an eastern Australian wet sclerophyll forest[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(12): 3492-3501.

Study on Diversity and Community Characteristics of Soil Fungi at Burned Forest Sites for the Great Xing'an

ZHANG Hong, ZHENG Rong

(College of Life Sciences and Technology, Inner Mongolia Normal University, Hohhot, Inner Mongolia 010022)

Abstract: There were soil samples of different burned year and different burned degree to study at burned forest site for Great Xing'an, which would reveal diversity of soil fungi and variational characteristic of community, and provide theoretical basic for the science management of forest ecosystem and forest regeneration. The soil fungal characteristics were analyzed by PCR-DGGE method. Quantity one was used to analyze the diversity, and

DOI:10.11937/bfyy.201710038

新型肥料对土壤碳氮及枸杞产量的影响

王 榛, 刘 攀, 王文颖

(青海师范大学 生命与地理科学学院, 青海 西宁 810008)

摘 要:以 4 种新型肥料(瑞利源(RLY)、汇源(HY)、中农 1(ZN1)、中农 2(ZN2))为试材, 常规肥料为对照(CK), 基于青海省海西州诺木洪和乌兰地区枸杞的施肥试验, 研究了不同新型肥料对枸杞根际土壤总碳、全氮以及枸杞产量、品质的影响。结果表明:1)诺木洪试验地, RLY、ZN2 处理土壤总碳含量比 CK 分别提高了 4.49%和 3.55%;4 种处理下土壤全氮含量均小于 CK。乌兰试验地, RLY、ZN1、ZN2 处理的土壤总碳含量比 CK 分别提高了 2.75%、2.33%和 1.71%;土壤全氮含量均小于 CK。2)诺木洪各施肥处理样地与 CK 相比, 枸杞产量增幅分别为 21.8%(RLY)、23.9%(HY)、12.7%(ZN)、25.4%(ZN2);乌兰各施肥处理样地与 CK 相比, 枸杞产量增幅分别为 12.7%(RLY)、9.9%(HY)、1.1%(ZN)、21.1%(ZN2);在诺木洪和乌兰样地, ZN2 施肥处理枸杞产量增幅最高。3)诺木洪试验地新型肥料施肥处理未能显著增加枸杞多糖含量, 乌兰试验地 HY、ZN1、ZN2 处理下枸杞多糖含量显著高于 CK。

关键词:枸杞;施肥处理;土壤碳;土壤氮;产量

中图分类号:S 567.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)10-0166-06

枸杞(*Lycium barbarum* L.)属茄科(Solanaceae)枸杞属(*Lycium*)多年生木本植物,其果实、叶、果柄和根系中都含有人体需要的蛋白质、维生素、氨基酸和微量元素,枸杞是名贵的药材,又是很好的滋补品^[1],具有增强免疫力、降血压、降血脂、抗氧化、抗肿瘤等多方面的药理作用,有很高的药用价值和经济价值^[2]。青海省海西蒙古族藏族自治州柴达木盆地

是枸杞中心分布区之一,因其高海拔、强光照的地理特点及独特的土壤、气候条件,特别适合抗旱抗盐碱的枸杞生长^[3]。到目前,柴达木盆地种植枸杞的面积达 2.02 万 hm²,成为国内第二大枸杞产地。

枸杞生长过程中为了获得优质高产,经常施用一定数量的肥料,以补充土壤养分不足,满足枸杞各生长发育阶段的需要。合理施肥可供给枸杞植株所需养料,并改良土壤环境。当前枸杞种植过程施肥主要是以普通肥料为主^[4-5],这种肥料利用效率通常比较低^[6],已有不少单施化肥的枸杞地出现板结及植株的生长受阻^[7]。碳、氮是土壤有机质最基本的组成元素,土壤全碳、全氮含量可以作为评价土壤肥力的重要指标,土壤有机碳的数量和质量影响着土壤性质、过程和行为,土壤全氮含量反映了土壤中氮循环的状况,是衡量土壤肥力、评价土壤资源的一项

第一作者简介:王榛(1991-),男,硕士研究生,研究方向为植物生态学。E-mail:wangzhenhaikan@163.com

责任作者:王文颖(1973-),女,博士,教授,现主要从事植物生态学等研究工作。E-mail:wangwy0106@163.com

基金项目:国家重点研发计划资助项目(2016YFC0501906-1, 2016YFC0501901-05);国家自然科学基金资助项目(31260127);青海省自然科学基金资助项目(2016-ZJ-913)。

收稿日期:2017-02-07

compared sequence homology to construct phylogenetic tree. Principal component analysis of fungi were analyzed using Canoco software. The results showed that each fungus was rich in species, of which had the same fungus species and different fungus species, and the 17 preponderant bands had a close relationship with *Hebeloma*, *Hugrophorus*, *Sebacima*, *Funneliformis*, and some uncultured fungi. There was a significant influence on different soil fungal Shannon index(H), richness(S), evenness(E_H) in the different year and different burned degree($P < 0.05$). And different burned degree and different burned year also influenced soil fungal structure.

Keywords: Great Xing'an; burned forest sites; soil fungus; the community characteristics; diversity