

磷脂脂肪酸法分析鹤山针叶林和 荷木林的土壤微生物多样性

田倩^{1,2}, 夏汉平¹, 周丽霞^{1*}

(1. 中国科学院华南植物园, 中国科学院退化生态系统植被恢复与管理重点实验室, 广州 510650; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 用磷脂脂肪酸法(PLFA)分析广东鹤山两种人工林——针叶林和荷木林不同土层(0~20 cm、20~40 cm、40~60 cm)的土壤微生物群落结构。结果表明,两种人工林的磷脂脂肪酸总量(PLFAs 总量)、细菌特征脂肪酸(细菌 PLFAs)、真菌特征脂肪酸(真菌 PLFAs),以及革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌特征脂肪酸的含量都是 0~20 cm 土层最高;荷木林的 PLFAs 总量高于针叶林,但这种差异随土壤深度增加而递减,且与土壤有机碳、全氮含量呈正相关。在相同土层,细菌 PLFAs 含量均显著高于真菌 PLFAs 含量。主成分分析表明,土壤微生物多样性及其丰富度受林型和土层综合作用的影响;单一的 PLFAs 中,il3:0、a13:0、17:0、cy17:0 和 16:0 等脂肪酸对第一主成分的贡献较大;il6:0、cy19:0、18:1 ω 9c、il5:0、18:2 ω 6c 和 a17:0 等脂肪酸对第二主成分贡献较大。

关键词: 人工林; 磷脂脂肪酸; 土壤微生物多样性; 土层

中图分类号: S154.36

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2011)02-0097-08

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2011.02.001

Analysis of Soil Microbial Diversity by Phospholipid Fatty Acid Method in Coniferous Forest and *Schima superba* Plantation in Heshan, Guangdong Province

TIAN Qian^{1,2}, XIA Han-ping¹, ZHOU Li-xia^{1*}

(1. Key Laboratory of Vegetation Restoration and Management of Degraded Ecosystems, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510160, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The soil microbial community diversity at different soil depths (0–20 cm, 20–40 cm, 40–60 cm) was analyzed by phospholipid fatty acid (PLFA) method in coniferous forest and *Schima superba* plantation in Heshan, Guangdong Province. The results showed that the amounts of total PLFAs, bacterial PLFAs, fungal PLFAs, Gram-positive bacterial PLFAs and Gram-negative bacterial PLFAs were the highest at 0–20 cm soil layer and decreased with increasing soil depth; the total PLFAs in *Schima superba* plantation was higher than that in coniferous forest, and was positively correlated with soil organic carbon and total nitrogen in the plantations. In the same soil layer, the concentration of bacterial PLFAs was higher than fungal PLFAs. Principal component analysis (PCA) indicated that the variation in soil microbial biomass and community structures were influenced by the differences of plantations and soil depth, PC1 was mainly composed of fatty acids of il3:0、a13:0、17:0、cy17:0 and 16:0, and PC2 mainly composed of il6:0、cy19:0、18:1 ω 9c、il5:0、18:2 ω 6c and a17:0.

Key words: Plantation; PLFAs; Soil microbial diversity; Soil depth

收稿日期: 2010-04-01

接受日期: 2010-11-21

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(30771704); 国家重点基础研究发展计划(2009CB421101); 国家杰出青年科学基金(30925010); 国家自然科学基金重点项目(30630015)资助

作者简介: 田倩(1985~), 女, 硕士, 主要从事土壤生态学研究, email: tianqian@scbg.ac.cn

* 通讯作者 Corresponding author, email: zhoulx@scbg.ac.cn

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,它参与土壤中的能量流动、营养循环和有机物转化^[1-2],与生态系统恢复过程中生态系统多样性和功能的重建密切相关。土壤微生物对养分和干扰反应敏感,其多样性可以较早地反映出土壤性质的变化:在熟化程度高和肥力好的土壤中,土壤微生物的数量较多,细菌所占的比例较高;反之,土壤微生物总数较少,细菌所占比率相对较低,真菌和放线菌的比率相对较高^[3-4]。因此,以土壤微生物多样性为指标反映土壤肥力的状况,进而了解生态系统的恢复进程,越来越受到科学家的重视^[5]。

近年来,随着土壤微生物测定方法的不断改进,土壤微生物分析已由传统的培养计数法、直接镜检法等,发展到根据碳源利用程度来描述微生物动态变化的微平板法(BIOLOG)、利用不同的 DNA 碱基序列指示微生物群落组成差异的变性梯度凝胶电泳法(DGGE),以及可以定量描述土壤微生物群落结构的脂肪酸甲酯(FAME)分析和磷脂脂肪酸(PLFA)分析等^[6-7]。磷脂脂肪酸是活体微生物细胞结构的重要组成部分,不同类群的微生物可以通过不同的生化途径来合成不同的脂肪酸,其周转速率极快且随细胞的死亡而迅速降解,并对环境因素敏感,分析结果重复性较好,因此可较准确地表达土壤微生物的类群及其生物量^[8-11]。本文用 PLFA 方法,分析了广东鹤山地区两种人工林——针叶林和荷木林不同土层的土壤微生物生物量与微生物群落组成,以了解不同人工林的土壤微生物群落结构及其变化,为进一步的营林管理与优化生态系统的评选提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 样地概况

试验地位于中国科学院鹤山丘陵综合开放试

验站(22°34' N,112°50'E)。该试验站位于广东省中部,为低丘地势,山脊平圆,坡面平缓,平均海拔 80 m,属亚热带季风气候,年均气温 21.7℃,最热月均温 29.2℃,最冷月均温 12.6℃。年均日照时数 1798 h,年均降雨量 1800 mm,年均蒸发量为 1638.8 mm。地带性土壤为赤红壤,土壤质地以粘壤土类和壤质粘粒为主。该试验站自 1984 年起陆续种植了不同类型的人工林,开展退化丘陵荒坡植被恢复的机理研究与方法探索。我们选择两种在我国南方地区种植面积较大、分布较广的人工林——针叶林和荷木林,分析了不同树种(针叶树种与阔叶树种)和土层深度(0~20 cm,20~40 cm,40~60 cm)对土壤微生物多样性的影响。

1.2 土壤理化性质测定

2009 年 5 月,在两种林型下各设置 6 个随机分布的重复取样点,用土壤采集器分别采集 0~20 cm、20~40 cm 和 40~60 cm 深度的土壤。在布点和采样时尽量避免其他人工干扰。采集的土样除去其中的细根、砾石等杂质,过 2 mm 筛后进行土壤微生物分析,同时用烘干法测定土壤的含水量。风干磨碎后的土壤用于理化性质测定:土壤 pH 值用 pH 计测定,水土比为 1:2.5;土壤全氮含量采用半微量开氏法测定;土壤有机碳含量采用 K₂Cr₂O₇氧化-外加热法测定^[12]。土壤理化性质测定结果见表 1。

1.3 土壤微生物 PLFAs 分析

PLFA 分析主要参照 Bossio and Scow^[13]的方法。称取相当于 8 g 干重的新鲜土壤,置于离心管中,加入提取液(氯仿: 甲醇: 磷酸缓冲液体积比为 1:2:0.8)后振荡 2 h,然后在 2000 × g 离心 10 min,将上清液倒入加有 12 mL 氯仿和 12 mL 磷酸缓冲液的分液漏斗中;下层沉淀再用 23 mL 提取液重复

表 1 供试土壤的理化性质
Table 1 The soil physical and chemical properties

林型 Plantation	土深 Soil depth (cm)	含水量 Water content (%)	pH	有机碳 Organic carbon (g kg ⁻¹)	全氮 Total nitrogen (g kg ⁻¹)	C: N
针叶林	0~20	20.59 ± 3.00a*	3.90 ± 0.05b	14.30 ± 0.83a	1.23 ± 0.19a	11.8 ± 1.16a
Coniferous forest	20~40	22.20 ± 4.76a	4.09 ± 0.06a	7.87 ± 0.60b	0.90 ± 0.12ab	9.23 ± 1.00ab
	40~60	18.23 ± 1.34a	4.12 ± 0.05a	5.25 ± 0.99c	0.72 ± 0.11b	7.97 ± 1.14b
荷木林	0~20	18.07 ± 0.95a	3.97 ± 0.04b	13.88 ± 1.04a	1.36 ± 0.11a	10.44 ± 0.97a
<i>Schima</i>	20~40	18.31 ± 0.57a	4.19 ± 0.05a	7.14 ± 0.87b	0.89 ± 0.08b	8.50 ± 1.47a
<i>superba</i>	40~60	23.38 ± 4.18a	4.30 ± 0.05a	4.92 ± 0.83b	0.63 ± 0.10b	8.66 ± 1.48a

n = 6; 同列数据后不同字母表示差异显著(P < 0.05)。Data followed different letters within each column indicate significant difference at 0.05 level.

提取1次。两次的提取液混合摇匀,静置过夜。第2天将分液漏斗中的氯仿层小心接入试管中,在30℃~32℃水浴中用高纯N₂吹干。浓缩的脂肪酸用1 mL氯仿分5次转移到活性硅胶柱中,分别用氯仿、丙酮和甲醇洗提,弃去氯仿和丙酮洗提液,收集甲醇洗提液,在32℃水浴中用高纯N₂吹干后,依次加入1 mL甲醇:甲苯(体积比1:1)混合液和1 mL 0.2 mol/L KOH甲醇溶液,振荡混匀,在37℃水浴中处理15 min。之后加入0.3 mL 1 mol/L 醋酸、2 mL正己烷和2 mL纯水,低速振荡10 min,提取上层溶液;剩余溶液用2 mL正己烷重复提取1次,两次提取的上层溶液混合后,用高纯N₂吹干,得到甲酯化的脂肪酸样品。该样品用200 μL正己烷溶解,以19:0甲酯作为内标物,在气相色谱仪(Hewlett-Packard 6890 series GC, FID)上采用MIDI软件系统(MIDI, Inc., Newark, DE)进行分析,测定磷脂脂肪酸各组分的含量。

1.4 PLFA 命名原则

PLFA以碳原子总数:双键数和双键距离分子末端的位置来命名,a(anteiso)和i(iso)分别表示支链的反异构和异构,cy表示环丙烷脂肪酸;c和t表示顺式和反式的异构体;10Me表示一个甲基侧链在距离分子末端第10个碳原子上,br表示甲基支链的位置未知;OH前的数字表示羟基的位置^[13-15]。

1.5 表征土壤微生物的脂肪酸

根据已有的报道,PLFAs i14:0、i15:0、i16:0、a15:0、i17:0、a17:0表征革兰氏阳性菌^[16-17];15:0 3OH、16:1 2OH、16:1ω7c、cy17:0、cy19:0表征革兰氏阴性菌^[16-17];i15:0、a15:0、15:0、i16:0、16:1ω5c、16:1ω9c、17:0、i17:0、a17:0、cy17:0、cy19:0表征细菌^[18-20];18:1ω9、18:2ω6表征真菌^[17-18,20]。

1.6 统计分析

数据统计分析采用SPSS16.0软件,测定结果以平均值表示,显著水平采用 $P \leq 0.05$,用单因素方差分析不同土层土壤微生物多样性的变化。磷脂脂肪酸含量用Excel 2003软件作图。土壤微生物群落结构用SPSS16.0的主成份分析法(Principal components analysis, PCA)进行分析和作图。细菌和真菌PLFAs含量统计分析前经过了平方根转换。

2 结果和分析

2.1 不同土壤深度的土壤微生物群落组成

在两种林型中,土壤PLFAs总量、细菌和真菌PLFAs含量均为0~20 cm > 20~40 cm > 40~60 cm,但这种差异随着土壤深度的增加而呈递减的趋势(图1)。在针叶林中,0~20 cm土壤的PLFAs总量、细菌和真菌PLFAs含量都显著高于20~40 cm和40~60 cm的($P < 0.05$),且20~40 cm与40~60 cm间差异不显著;在荷木林中,除0~20 cm的细菌PLFAs含量显著高于40~60 cm的外($P < 0.05$),不同土层间的土壤PLFAs总量和真菌PLFAs含量差异不显著。统计分析表明,荷木林PLFAs总量的平均值为 $5.90 \mu\text{g g}^{-1}$,显著高于针叶林的 $4.26 \mu\text{g g}^{-1}$ ($P = 0.014$);其细菌PLFAs的平均值($1.08 \mu\text{g g}^{-1}$)也显著高于针叶林的 $0.61 \mu\text{g g}^{-1}$ ($P = 0.021$);而针叶林的真菌PLFAs(平均值为 $0.12 \mu\text{g g}^{-1}$)与荷木林的($0.15 \mu\text{g g}^{-1}$)没有显著差异($P = 0.516$)。

两林型中真菌PLFAs:细菌PLFAs随土壤加深而递减,但不同土层间的差异不显著。荷木林的真菌PLFAs:细菌PLFAs的平均值为0.17,略高于针叶林的0.14,但差异不显著($P = 0.317$)。

革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌PLFAs含量在两林型中,均为0~20 cm > 20~40 cm > 40~60 cm(图2)。两林型0~20 cm土壤深度的革兰氏阳性菌PLFAs含量均与40~60 cm的差异显著($P < 0.05$)。针叶林0~20 cm的革兰氏阴性菌PLFAs含量与20~40 cm、40~60 cm有显著差异($P < 0.05$),但20~40 cm和40~60 cm间差异不显著;荷木林以0~20 cm最高,40~60 cm最低,但差异不显著。相同土层,除40~60 cm外,均是革兰氏阳性菌高于革兰氏阴性菌;革兰氏阳性菌的PLFAs含量在两林型几乎相同,平均值分别为 $0.52 \mu\text{g g}^{-1}$ 和 $0.53 \mu\text{g g}^{-1}$;而荷木林革兰氏阴性菌PLFAs含量平均为 $0.82 \mu\text{g g}^{-1}$,明显高于针叶林的 $0.42 \mu\text{g g}^{-1}$ 。

针叶林0~20 cm、20~40 cm、40~60 cm的革兰氏阳性菌:革兰氏阴性菌的平均值分别为1.52、1.35、0.75,而荷木林的分别为1.47、1.20、0.53,可见0~20 cm > 20~40 cm > 40~60 cm。其中0~20 cm、20~40 cm的比值明显高于40~60 cm的,且0~20 cm与20~40 cm间无明显差异。

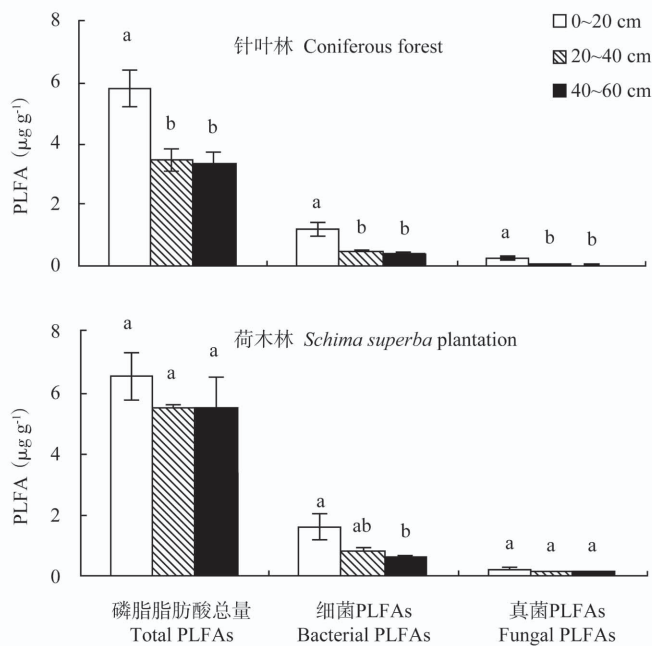


图 1 不同土层的磷脂脂肪酸总量、细菌和真菌特征脂肪酸含量

Fig. 1 Total PLFAs, bacterial PLFAs and fungal PLFAs in different soil depths of two plantations $n = 6$. 不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。Different letters indicate significant differences at 0.05 level.

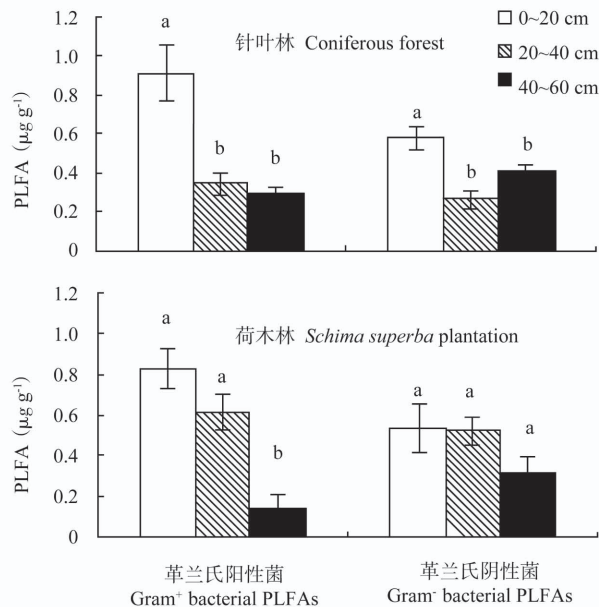


图 2 两种林型不同土层的革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌

Fig. 2 Gram⁺ and Gram⁻ bacterial PLFAs in different soil depths of two plantations $n = 6$. 不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。Different letters indicate significant differences at 0.05 level.

2.2 土壤微生物群落的结构分析

对土壤 PLFAs 的主成分分析(PCA)结果表明,前两个主成分(PC1、PC2)解释了微生物群落结构总变异的 54.90%,其中第一主成分的贡献值为 38.37%。两种林型的不同土层都比较均匀地分布在 PC1 坐标轴的左右端。第二主成分对微生物群

落结构变异的贡献值为 16.53%,针叶林 40~60 cm 均分布在 PC2 坐标轴的下端;针叶林、荷木林 20~40 cm 也多分布在 PC2 坐标轴的下端;而荷木林 0~20 cm 均分布在 PC2 坐标轴的上端。PC1 反映出林型($P = 0.432$)和土层($P = 0.225$)对土壤微生物群落的综合作用,而 PC2 则更偏重于土层($P = 0.001$)

对土壤微生物群落的影响(图 3)。在单一 PLFAs 中,i13:0、a13:0、17:0、cy17:0、16:0 对 PC1 的贡献较大,而 i16:0、cy19:0、18:1 ω 9c、i15:0、18:2 ω 6c、a17:0 对 PC2 的贡献较大(图 4)。

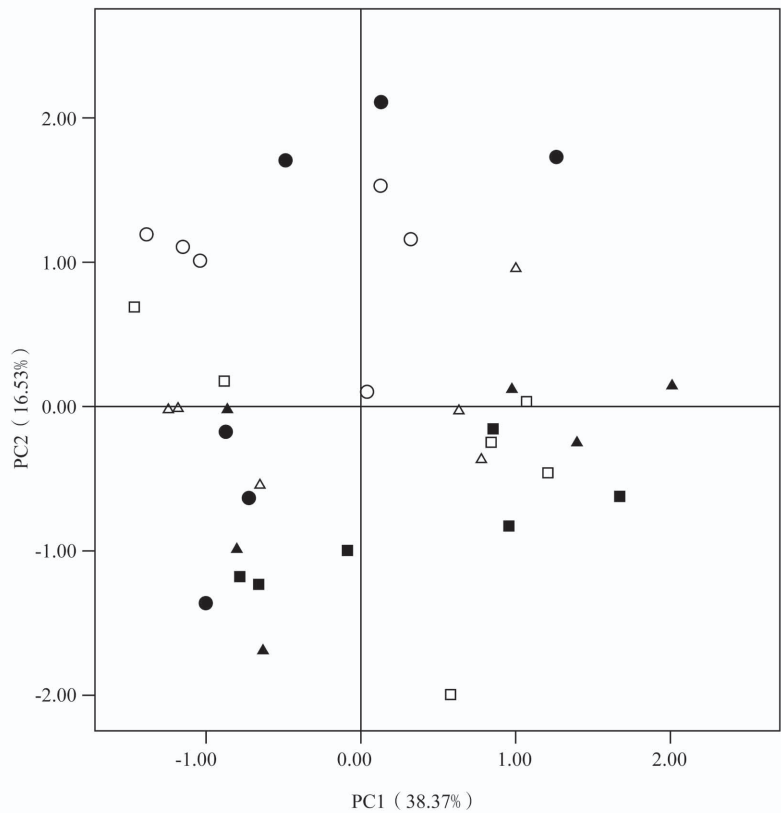


图 3 两种林型不同土层磷脂脂肪酸的主成分分析

Fig. 3 Principal components analysis(PCA)of PLFAs in the different soil layers of two plantations

针叶林 Coniferous forest: ● 0 ~ 20 cm; ▲ 20 ~ 40 cm; ■ 40 ~ 60 cm;

荷木林 *Schima superba* plantation: ○ 0 ~ 20 cm; △ 20 ~ 40 cm; □ 40 ~ 60 cm.

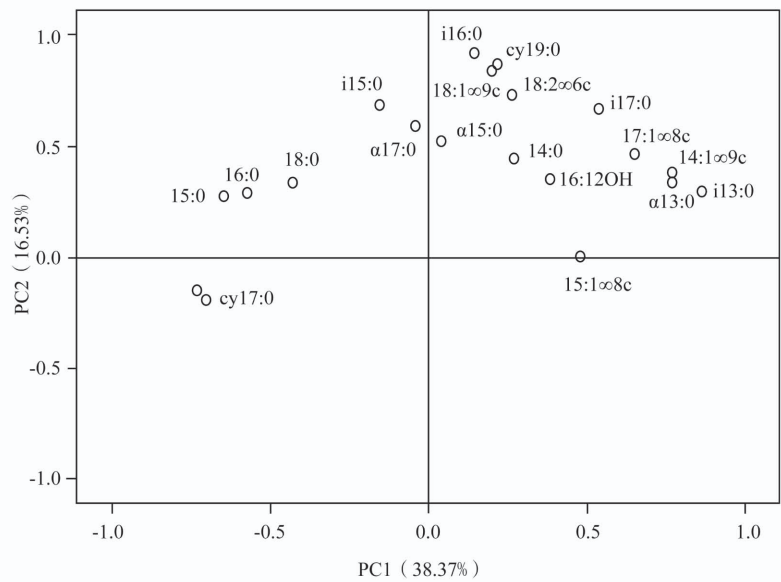


图 4 单一的 PLFAs 主成分分析

Fig. 4 Principal components analysis (PCA) of the individual PLFAs

表 2 土壤微生物指标与土壤理化性质的相关分析

Table 2 Pearson correlations coefficients between microbial variables and soil physico-chemical characteristics

	pH	有机碳 Organic carbon	全氮 Total nitrogen	C: N
磷脂脂肪酸总量 Total PLFAs	0.17	0.46*	0.34	0.27
细菌 PLFAs Bacterial PLFAs	-0.39*	0.72**	0.57**	0.34
真菌 PLFAs Fungal PLFAs	-0.29	0.66**	0.50	0.35
革兰氏阳性菌 PLFAs Gram ⁺ bacterial PLFAs	-0.55*	0.76**	0.81**	0.21
革兰氏阴性菌 PLFAs Gram ⁻ bacterial PLFAs	-0.34	0.48*	0.69**	-0.09

* : $P < 0.05$; ** : $P < 0.01$.

通过对针叶林和荷木林不同土层的 PLFAs 排序比较表明,16: 0、cy19: 0、il5: 0、il7: 0、16: 1 2OH 在各层均较丰富,其中 16: 0 的含量在两种林型中最高,且均是 0 ~ 20 cm > 20 ~ 40 cm > 40 ~ 60 cm,0 ~ 20 cm 的含量显著高于 20 ~ 40 cm 和 40 ~ 60 cm ($P < 0.05$);il5: 0 在两个林型中的变化趋势相同;而 il7: 0 和 cy19: 0 在两个林型不同土层间的差异不显著。

2.3 土壤微生物多样性与土壤理化性质的相关性

将两种林型的土壤微生物多样性及其丰富度 (PLFAs 总量、细菌和真菌 PLFAs 含量、革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌 PLFAs 含量)与土壤理化性质进行相关分析,结果表明,土壤微生物指标均与土壤有机碳和全氮含量呈正相关;除 PLFAs 总量外,其余各项指标均与 pH 呈负相关;革兰氏阴性菌 PLFAs 与 C: N 呈负相关,其余指标均与 C: N 呈正相关(表 2)。

3 讨论

有研究表明^[21],影响人工林土壤微生物群落结构的主要因素有:(1)植物类型,植物是土壤微生物生长发育的主要驱动力;(2)土壤类型,土壤的质地结构、有机质含量、pH 值、土壤营养元素供给等都会对土壤微生物产生影响;(3)土壤管理制度,如作物轮作、耕作、化学农药和肥料的使用以及农田灌溉等。本研究选择的试验样地均位于鹤山实验站内,营林管理措施相同。因此,植被类型和土壤特性的不同是引起人工林土壤微生物群落结构变化的主要诱因。

植被类型对微生物群落的影响研究,目前集中于植物群落多样性、不同植物类型根际、同一植物不同基因型间或不同根区根际对土壤微生物群落

的影响方面^[21-26]。本研究结果表明,两种林型的细菌 PLFAs 均高于真菌 PLFAs,说明细菌在这两种林型中占统治地位^[3-4],主要是由于试验地带属南亚热带季风气候,具有雨热同期的特点,5 月份采样时正处于雨季阶段,较高的同期土壤温度与湿度有利于土壤中细菌的生长^[3-4,27]。荷木林(阔叶林)的 PLFAs 总量、细菌 PLFAs 含量均显著高于针叶林,其原因是阔叶林型下的土壤有机残体的分解过程较为强烈,特别是在温度、湿度适宜的条件下,细菌的分解占优势^[28]。荷木林的真菌含量虽略高于针叶林,但差异不显著,说明真菌在南亚热带不同林型中的含量相对稳定^[3-4]。两种林型表层土壤 (0 ~ 20 cm)的真菌 PLFAs 含量占脂肪酸总量小于 9%,远低于农业土壤中真菌含量约占总生物量的 60% ~ 70%^[29],这除了与分析样品的植被、土壤类型不同相关外,可能还与分析测定方法的不同有关^[20]。就单一磷脂脂肪酸而言,16: 0、il5: 0、il7: 0、cy19: 0、16: 1 2OH 在两个林型的各土层都具有较高的丰富度。

土壤结构和类型是决定土壤微生物群落结构的另一主要因素^[30-31]。土壤类型相同,其土壤微生物群落结构也相似^[32]。本研究表明,PLFAs 总量、细菌 PLFAs、真菌 PLFAs、革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌 PLFAs 含量在两林型中均为 0 ~ 20 cm > 20 ~ 40 cm > 40 ~ 60 cm,即随土层加深而递减。根据 Pearson 相关系数分析,上述 5 个指标与土壤有机碳和全氮含量呈正相关,表明不同土层的土壤微生物 PLFAs 含量受土壤有机碳、全氮含量变化的影响^[33]。Sessitsch^[32]对长期不同施肥条件下的土壤颗粒中的微生物群落结构进行分析,结果表明在同一粒径下,有机质含量越高,微生物多样性越丰富,即土壤有机质含量会显著影响土壤微生物的群落结构。本研究结果表明,表层土壤的微生物

PLFAs 含量及其群落组成高于底层土壤,且荷木林(阔叶林)高于针叶林,且与土壤有机碳、全氮含量成正相关,也说明土壤微生物多样性及其丰富度是与土壤质地密切相关的。Frostegård^[19]用磷脂脂肪酸法分析自然状态和添加石灰后的森林土壤微生物群落变化,结果表明 pH 的变化对微生物群落有影响,土壤 pH 值增大,革兰氏阴性菌增加而革兰氏阳性菌减少,但对真菌影响不大;此外 pH 增大使得 16:1 ω 5c、14:0、16:1 ω 9c、16:1 ω 7c、cy17:0 含量增加^[19]。本研究结果表明,针叶林和荷木林 40 ~ 60 cm 土壤深度的 pH 值最大,且革兰氏阴性菌含量高于革兰氏阳性菌,这与前人的研究结果类似,即 pH 与细菌含量呈负相关^[20]。但由于本研究的针叶林和荷木林 3 个土壤深度的 pH 值变化较小(3.9 ~ 4.4),因此 pH 对土壤微生物的影响还有待于进一步研究。

致谢 野外采样与室内分析得到丁明懋研究员、林永标高级工程师和实验员傅淑霞、傅声兴等的大力支持,特此致谢。

参考文献

- [1] Kennedy A C, Smith K L. Soil microbial diversity index and the sustainability of agricultural soils [J]. Plant Soil, 1995, 170: 75–86.
- [2] Yao H, He Z, Wilson M J, et al. Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use [J]. Microb Ecol, 2000, 40: 223–237.
- [3] Zhou L X(周丽霞), Yi W M(蚁伟民), Yi Z G(易志刚), et al. Soil microbial characteristics in rehabilitation process of degraded ecosystems in Heshan [J]. J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报), 2004, 12(3): 202–206.(in Chinese)
- [4] Ding M M, Yi W M, Liao L Y, et al. Effects of afforestation on microbial biomass and activity in soils of tropical China [J]. Soil Biol Biochem, 1992, 24: 865–872.
- [5] Qi J J(祁建军), Yao H Y(姚槐应), Li X E(李先恩), et al. Analysis of soil microbial diversity in rehmanna glutinosa rhizosphere with phospholipid fatty acid method [J]. Soils(土壤), 2008, 40(3): 448–454.(in Chinese)
- [6] Zhang R F(张瑞福), Cui Z L(崔中利), Li S P(李顺鹏). Advance in methods for research on soil microbial community structure [J]. Soils(土壤), 2004, 36(5): 476–480.(in Chinese)
- [7] Haack S K, Garchow H, Odelson D A, et al. Accuracy, reproducibility and interpretation of fatty acid methylester profiles of model bacterial communities [J]. Appl Environ Microb, 1994, 60: 2483–2493.
- [8] Zhou L X(周丽霞), Ding M M(丁明懋). Soil microbial characteristics as bioindicators of soil health [J]. Biodivers Sci(生物多样性), 2007, 15(2): 162–171.(in Chinese)
- [9] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lip polysaccharides in the characterization of microbial communities in soil [J]. Biol Fert Soils, 1999, 29: 111–129.
- [10] Bossio D A, Scow K M, Gunapala N, et al. Determinants of soil microbial communities: Effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles [J]. Microb Ecol, 1998, 36(1): 1–12.
- [11] Bai Z(白震), He H B(何红波), Zhang W(张巍), et al. PLFAs technique and its application in the study of soil microbiology [J]. Acta Ecol Sin(生态学报), 2006, 26(7): 2387–2394.(in Chinese)
- [12] Liu G S(刘光崧), Jiang N H(蒋能慧), Zhang L D(张连第), et al. Soil Physical and Chemical Analysis & Description of Soil Profiles [M]. Beijing: Standards Press of China, 1996: 121–173.(in Chinese)
- [13] Bossio D A, Scow K M. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: Phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns [J]. Microb Ecol, 1998, 35: 265–278.
- [14] Bååth E, Frostegård A, Pennanen T, et al. Microbial community structure and pH response in relation to soil organic matter quality in wood-ash fertilized, clear-cut or burned coniferous forest soils [J]. Soil Biol Biochem, 1995, 27: 229–240.
- [15] Ponder Jr F, Tadros M, Loewenstein E F. Microbial properties and litter and soil nutrients after two prescribed fires in developing savannas in an upland Missouri Ozark Forest [J]. For Ecol Manag, 2009, 257: 755–763.
- [16] Zak D R, Ringelberg D B, Pregitzer K S, et al. Soil microbial communities beneath *Populus grandidentata* crown under elevated atmospheric CO₂ [J]. Ecol Appl, 1996, 6: 257–262.
- [17] Sampedro L, Jeannotte R, Whalen J K. Trophic transfer of fatty acids from gut microbiota to the earthworm *Lumbricus terrestris* L. [J]. Soil Biol Biochem, 2006, 38: 2188–2198.
- [18] Marhan S, Kandeler E, Scheu S. Phospholipid fatty acid profiles and xylanase activity in particle size fractions of forest soil and casts of *Lumbricus terrestris* L. (Oligochaeta, Lumbricidae) [J]. Appl Soil Ecol, 2007, 35: 412–422.
- [19] Frostegård A, Bååth E, Tunlid A. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis [J]. Soil Biol Biochem, 1993, 25: 723–730.
- [20] Frostegård A, Bååth E. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil [J]. Biol Fert Soils, 1996, 22: 59–65.
- [21] Wang G H(王光华), Jing J(金剑), Xu M N(徐美娜), et al. Effects of plant, soil and soil management on soil microbial community diversity [J]. Chin J Ecol(生态学杂志), 2006, 25(5): 550–556.(in Chinese)
- [22] Zak D R, Holmes W E, White D C, et al. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: Are there any links? [J] Ecology, 2003, 84: 2042–2050.
- [23] Kaiser O, Puhler A, Selbitschka W. Phylogenetic analysis of microbial diversity in the rhizoplane of oilseed rape (*Brassica napus* cv. Westar) employing cultivation-dependent and cultivation-independent approaches [J]. Microb Ecol, 2001, 42: 136–149.
- [24] Smalla K, Wieland G, Buchner A, et al. Bulk and rhizosphere soil

- bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: Plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed [J]. Appl Environ Microb, 2001, 67: 4742–4751.
- [25] Arab H G D E, Vlich V, Sikora R A. The use of phospholipids fatty acids (PLFA) in the determination of rhizosphere specific microbial communities of two wheat cultivars [J]. Plant Soil, 2001, 228: 291–297.
- [26] Seldin L, Rosado A S, Cruz D W, et al. Comparison of *Paenibacillus azotofixans* strains isolated from rhizoplane, rhizosphere, and non-root-associated soil from maize planted in two different Brazilian soils [J]. Appl Environ Microb, 1998, 64: 3860–3868.
- [27] Yang J C, Insam H. Microbial biomass and relative contributions of bacteria and fungi in soil beneath tropical rain forest, Hainan Island, China [J]. Trop Ecol, 1991, 7: 385–393.
- [28] Guo Y B(郭银宝), Xu X Y(许小英). Three kinds of soil microbe community quantity distribution in different vegetable soil [J]. Sci Techn Qinghai Agri For (青海农林科技), 2005, 3: 16–18. (in Chinese)
- [29] Wen Q(文倩), Lin Q M(林启美), Zhao X R(赵小蓉), et al. Application of PLFA analysis in determination of soil microbial community structure in woodland, cropland and grassland in Farmland-pasture interleaving zone of north China [J]. Acta Pedol Sin(土壤学报), 2008, 45(2): 321–327. (in Chinese)
- [30] Gelsomino A, Keijzer-Wolters A, Cacco G, et al. Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis [J]. J Microb Meth, 1999, 38: 1–15.
- [31] Chiarini L, Bevivino A, Dalmastrì C, et al. Influence of plant development, cultivar and soil type on microbial colonization of maize root [J]. Appl Soil Ecol, 1998, 8: 11–18.
- [32] Sessitsch A, Weilharter A, Gerzabek M, et al. Microbial population structures in soil particle size fractions of a long-term fertilizer field experiment [J]. Appl Environ Microb, 2001, 67: 4215–4224.
- [33] Ou Y R(区余瑞), Su Z Y(苏志尧), Peng G X(彭桂香), et al. Soil microbial functional diversity in a montane evergreen broadleaved forest of Chebaling following the Huge Ice Storm in South China [J]. Acta Ecol Sin(生态学报), 2009, 29(11): 6157–6164. (in Chinese)