

東海大學生命科學系
碩士論文

指導教授：汪碧涵

Dr. Pi-Han Wang

不同林相之土壤微生物功能與群聚結構
及其受森林疏伐之影響

Community structure and function of soil microorganisms
in different forest stands and effect of forest thinning
on soil microorganisms

研究生：陳文政

Wen-Cheng Chen

中華民國九十九年七月

東海大學生命科學系碩士論文

不同林相之土壤微生物功能與群聚結構 及其受森林疏伐之影響

Community structure and function of soil microorganisms
in different forest stands and effect of forest thinning
on soil microorganisms

指導教授：汪碧涵

Dr. Pi-Han Wang

研究生：陳文政

Wen-Cheng Chen

中華民國九十九年七月

誌 謝

在完成碩士論文的過程中遇到許多困難，在途中得到許多人的幫助以及鼓勵，在此表達我最誠摯的謝意：

最感謝恩師 汪碧涵教授耐心教導與包容，在實驗不順利時給予建議及鼓勵，費心安排給予學生許多出國實習以及參加國際會議的機會。我從老師身上學習到對實驗的嚴謹態度和做人的道理，我對老師印象最深刻的一句話就是「不要害怕犯錯，但不要犯相同的錯，要從錯誤中學習」，在未來人生中希望以此為準則，不斷學習成長。

感謝口試委員中興大學植病學系 柯文雄教授與東吳大學微生物學系 趙維良教授對於論文內容的指導與建議。感謝本系 孫義方老師、江智民老師和林宜靜老師提供採樣設計以及統計分析的建議。感謝 Dr. Cara Lin Bridgman，修課以及和她討論使我的科學英文以及思考有所成長。感謝東吳大學微生物學系李重義老師對於論文內容的建議。

感謝台大農化系 王明光教授提供塔塔加林相研究的採樣設計，感謝江博能博士、江凱楹博士與傅偉銘學長協助塔塔加採樣。感謝台大農化系 賴朝明老師與鍾孟好同學提供土壤性質以及土壤酵素活性資料，及屏科大 郭耀綸老師提供土壤呼吸量數據，與本研究微生物資料共同進行分析。

感謝東海大學環科系 黃啟裕老師在 DGGE 方法上的指導及中興大學植病系 曾國欽教授，實驗設備上的支援，和楊雯馨以及張冬青學姊在 Biolog 方法上的建議，感謝中興大學 楊秋忠教授以及沈佛亭博士在核酸分析上的指導。感謝林務局經費支持，使本人研究得以順利進行。

感謝加拿大泛太平洋林業中心的研究員 Richard Winder 還有

David Levy Booth，謝謝他們對我在加拿大研究上的合作及生活上的協助。

感謝實驗室的夥伴蕭詩菁學姐、林宛柔學姊、田志仁學長、王藝婷、曹嘉真、李毓文、高明脩、陳盈誼在這幾年中，在實驗室一起奮鬥努力及成長。

最後感謝默默在背後支持的家人，等我畢業等得不耐煩的黑爸和黑媽，總是在家裡期盼孫子常回家的阿嬤，一直抱怨我都不回家幫忙工作的弟弟，還有在天上的爺爺，為你們獻上這本碩士論文，表達我的謝意。

目 錄

中文摘要.....	I
ABSTRACT.....	III
前言.....	1
一、土壤微生物對於森林生態系之重要性.....	1
二、土壤微生物分析方法回顧.....	3
三、植被對土壤微生物之影響.....	6
四、台灣林相種類與紅檜、柳杉林人工林栽種歷史.....	9
五、森林疏伐對於生態系統的影響.....	10
六、疏伐對於土壤微生物生質量、族群、群聚結構與功能之影響.....	12
七、國內文獻回顧.....	13
八、研究目的.....	15
材料與方法.....	16
一、研究地點.....	16
二、實驗設計與土壤採樣.....	17
三、土壤樣本處理與保存.....	19
四、計數微生物族群.....	19
1. 製備土壤懸浮液與平板計數法.....	19
2. 土壤含水率之測量與微生物族群之計算方法.....	20
五、群落層級生理譜(community level physiological profiles, CLPP).....	20
六、土壤細菌群聚結構分析.....	21
1. 土壤 DNA 萃取方法.....	21
2. 聚合酶連鎖反應.....	23
3. PCR 產物的濃縮(酒精沉澱).....	23
4. 變性梯度凝膠電泳.....	23
七、統計分析方法.....	24
結果.....	26
一、微生物族群在林相間季節性變化.....	26
二、不同林相間之土壤細菌群聚結構之比較.....	29
三、不同林相間群落層級生理譜之比較.....	29
四、疏伐對於微生物族群之影響.....	30
五、土壤菌數與環境因子間關係.....	32
六、疏伐對細菌群落之影響.....	33
七、疏伐後柳杉林土壤細菌群落之季節性變動.....	34
八、疏伐對群聚層級生理譜之影響.....	35
九、環境因子與碳源利用之關係.....	36
討論.....	38
一、塔塔加森林土壤微生物族群的季節性變化.....	38

二、土壤細菌群聚結構受地表植被相之影響.....	39
三、土壤細菌群聚結構受地理位置、林相與擾動歷史之影響.....	40
四、疏伐對於土壤微生物活性之影響.....	40
五、疏伐對於土壤細菌群聚結構之影響.....	42
六、疏伐樣區植被多樣性對於碳源利用多樣性之影響.....	45
七、微生物族群與環境因子間關係.....	46
八、放線菌菌數與土壤含水率相關.....	47
九、比較皆伐與疏伐對於土壤微生物之影響.....	47
十、土壤微生物分析方法之優缺點比較.....	49
十一、貢獻.....	50
結論.....	51
參考文獻.....	53
表目錄.....	70
圖目錄.....	72
附錄目錄.....	74
表.....	75
圖.....	92
附錄.....	118
個人資料.....	133

中文摘要

本研究調查與比較台灣中、高海拔不同林相與草原的土壤微生物相，檢視兩種強度疏伐對柳杉與紅檜林微生物菌數、群聚與功能之擾動後的立即影響，並探討環境因子與微生物變化之關係。林相比較結果顯示有些季節，不同林相間菌數有顯著差異；柳杉林通常具有較高土壤菌數，且菌數的季節變化小。柳杉林環境條件變化小，因此微生物族群穩定，受季節影響小；塔塔加四種林相，草原、鐵杉、雲杉與二葉松土壤菌數的季節變化相似，春冬菌數高於夏秋。夏秋森林土壤菌數低，可能與夏季大雨降雨不均，高溫易導致土壤乾旱，較不利微生物生長有關。以變性梯度膠體電泳分析土壤細菌群聚結構，其差異在林相間顯著，且受林相所處地理位置的影響。比較柳杉與紅檜林的群落層級生理譜，顯示微生物功能多樣性有顯著差異。林相間微生物群聚與功能的差異，可能由於不同植物提供的有機物與根分泌物，影響與篩選微生物族群所致。柳杉人工林疏伐後半年內細菌與真菌菌數顯著增加，纖維素分解菌菌數在疏伐後第一年內增加但不顯著，放線菌、固氮菌與溶磷菌菌數則不受疏伐影響。複迴歸分析結果顯示細菌、真菌與纖維素分解菌菌數大都與有機質含量、土壤磷含量有顯著正相關。疏伐後短期內菌數的增加，可能因為疏伐產生大量枝葉與根系成為營養豐富的基質供微生物生長。柳杉林土壤細菌群聚結構受疏伐影響顯著，與疏伐後所遺留的枝葉提供的地表營養，使富養性(copiotroph)的細菌族群增加有關；柳杉林疏伐樣區經過一年半後，群聚結構在處理間不再有差異，是因為疏伐大量增加的養分耗盡，富養性細菌族群優勢降低，回復以原生寡養性(oligotrophic)細菌為主的群聚。而在疏伐四年後的紅檜人工林，疏伐對於細菌群聚結構的影響同

樣顯著。功能多樣性受到疏伐影響顯著，無論在柳杉林或紅檜林其疏伐處理的群落層級生理譜皆與控制組差異顯著。土壤微生物群落層級生理譜的測試中，柳杉林疏伐處理的土壤樣本對 Tween 40、果糖、棉子糖、核糖醇的利用能力顯著增加，大都與有機質含量有顯著正相關，與土壤含水率、無機氮含量有顯著負相關。細菌群聚結構與微生物功能可能受到疏伐後土壤有機物含量發生改變，植被演替狀況以及森林環境因子的改變有關。本研究獲得以下主要結論：一、不同的林相有不同的土壤微生物群聚與功能；二、森林土壤微生物族群與細菌群聚結構有季節性變化；三、疏伐後短期內土壤菌數增加；四、疏伐顯著影響土壤細菌群聚結構與微生物功能多樣性；五、疏伐後提高的土壤菌數與改變的優勢細菌群聚結構可回復；六、土壤細菌群聚結構受疏伐的影響時間較菌數增加為長。

Abstract

This study surveyed and compared the soil microbiota among stands and grassland of mid- or high-elevation ecosystem in Taiwan. The immediate effect of two level thinning intensities on microbial population, community composition and function was examined in a *Cryptomeria japonica* and a *Chamaecyparis formosensis* forests. The relationships between soil microorganisms and environmental factors are also discussed. Result suggested that the counts of microbial population were significantly different among stand types in some seasons. *C. japonica* usually had high counts and low seasonal variation in population. This might be due to the forest that environmental conditions of *C. japonica forest* were uniform, thus the microbial population in the forest was relatively stable. Therefore, seasonal effects on the population were minor. Microbial populations of grassland, and forests of spruce, hemlock and Taiwan red pine of *Tatachia* had similar seasonal dynamics. Soil counts were higher in winter and spring than in summer and fall. Lower counts of microbial population in summer and fall might be due to the uneven distribution of precipitation in summer and drought soil caused by higher temperature in summer. The situation is not suitable for microbial growth. Denaturing gradient gel electrophoresis was used to analyze community composition of soil bacteria. Stand types showed different soil bacterial community structure significantly. Community composition was related with geographic region significantly as well. Community level physiological profiles were significantly different between *C. japonica* and *C. formosensis* forests, indicating that function diversity of soil microorganisms was affected by stand types. The difference of community composition and microbial function among stands might be caused by the composition of organic matter and root

exudates of different plant species which has selective influence on soil microbial population. Thinning of *C. japonica* forest significantly increased its soil bacterial and fungal populations during the first 6 months after thinning and slightly increased its soil cellulolytic microbes during the first year, but not populations of actinomycetes, nitrogen fixing microbes and phosphate-solubilizing microbes. Multiple regression suggested that population of bacteria, fungi and cellulolytic microbes mostly positively correlated with organic matter content and phosphorus content. Microbial population increased in a short term, because thinning provided large amount of fresh leaves and roots as rich substrates initially for the growth of soil microbes. The community composition of soil bacteria was significantly different among treatments in the *C. japonica* research site. This might be due to the possibility that increased soil nutrient content caused by litter produced by thinning increased the population of copiotroph bacteria. The difference, however, was not significant after 18 months. Because the nutrient increased by thinning was exhausted, population of copiotroph bacteria decreased. The major member of the microbial community, therefore, was replaced by oligotrophic bacteria which were endemic bacteria species of the soil. In *C. formosensis* forest, the community composition of soil bacteria was significantly different between thinning treatments at the 4th year after thinning. Forest thinning significantly affected soil microbial functional diversity. Community level physiological profiles were significantly different between control and thinning treatments in both *C. japonica* and *C. formosensis* forests. The utilization abilities of Tween 40, fructose, raffinose and adonitol by soil microorganisms of *C. japonica* forest were significantly increased in thinning treatments, and mostly were positively correlated with soil organic matter content and negatively correlated with soil water and inorganic nitrogen content.

The community structures of soil bacteria and microbial function in forest were influenced by the organic matter content, plant succession and environmental factors. The main conclusions of this study are 1) different stand types sustained various microbial community and community level physiological profiles; 2) seasonal changes were found in microbial population and community composition of soil bacteria; 3) microbial population increased in six months after thinning; 4) thinning significantly affected community composition and functional diversity of soil microorganisms; 5) The increased soil counts and changes in community composition of dominant bacteria were both reversible; 6) The period of the thinning effect on community composition of soil bacteria was relatively longer than that on the counts increased by thinning.

前 言

一、土壤微生物對於森林生態系之重要性

森林生態系具有多種棲地供生物棲息，且棲地異質性高，有助於孕育與保育生物多樣性，是陸域中最重要生產者生態系(Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2001)。同時，森林有調節氣候、蘊含水資源及生產木材資源等重要功能(Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2001)。土壤微生物在森林生態系中擔任元素循環以及重要分解者的角色(Tate, 1995)，透過調節有機物的分解以及植物的營養吸收，影響森林生態系的營養循環(Nannipieri et al., 2003)。

土壤是目前所知生物多樣性最高的棲地，其中以微生物的多樣性最為龐大且難以估計 (Torsvik and Øvreås, 2002)，一克土壤中就有數千種細菌(Roesch et al., 2007)，其中，森林土壤較其他棲地有較高的細菌多樣性(Torsvik et al., 1996)。

各類土壤微生物，具有各種生態功能，依照其分類地位或在生態過程中行使的功能，分為微生物分類群與功能群。微生物分類群包括細菌、真菌與放線菌。土壤細菌、真菌是主要分解者，約佔 80-90% 的土壤生物活性與呼吸量 (Chapin et al., 2002)。土壤放線菌不但參與各類生化反應，也產生多種抗生素，影響土壤微生物群聚結構組成 (Alexander, 1977)。

微生物功能群包括纖維素分解菌、溶磷菌與固氮菌。纖維素分解菌將纖維素分解成還原糖，與碳元素的礦化作用關係密切(林，1993)。溶磷菌將土壤中無法溶解的磷化合物，以磷酸根的形式釋出，與土壤肥力有關(林，1993)。固氮菌將空氣中的氮轉換成銨，提供生

態系統重要氮源(Tate, 1995 ; Vadakattu and Paterson, 2006) , 由於氮源常是植物生長的限制因子, 土壤中的固氮菌具有調控植物生產力的作用(Chapin, 1980) 。菌根菌也是森林生態系中重要的土壤微生物功能群, 菌根菌一方面能從宿主獲得光合作用養分, 一方面幫助植物從土壤中吸收更多的必需養分, 例如: 胺基酸以及磷、銅、鐵與鋅等無機鹽類, 促進植物正常生長(van der Heijden et al., 2008) 。

有些土壤微生物對於森林林木生長有益, 有些則是森林樹木的病原菌, 如: 腐黴菌(*Pythium* sp.)是土壤傳播性病原菌感染黑櫻桃木(*Prunus serotina*, black cherry), 黑櫻桃木種子受母樹周圍土壤腐黴菌的感染, 幼苗難以生存, 必須離母樹一段距離才有機會形成健康幼苗, 由於傳播受到土棲病原菌的限制, 因此影響森林更新與演替情形(Packer and Clay, 2000 ; van der Putten, 2000)。有研究認為樹木病原菌是造成溫帶森林樹種多樣性的原因之一(van der Putten, 2000) 。

土壤微生物的群聚結構影響生態系功能。哥斯大黎加的熱帶低地研究指出, 土壤中腐植質分解速率和微生物群聚結構有高度相關性(Carney and Matson, 2005)。土壤中有機質的分解由多種微生物共同參與, 不同微生物在分解作用中扮演不同角色, 分解能力也不同, 因此微生物群聚組成影響有機質分解速率 (Carney and Matson, 2005)。土壤中好氧異營的微生物群落透過降解有機物, 獲得能量以及碳源, 藉此提高其生物量, 調節森林生態系的營養循環, 這對於生態過程以及生態系碳元素的平衡相當重要(Waldrop et al., 2000) 。

熱帶森林的研究指出, Cellobiohydrolase、Phenol oxidase、Peroxidase 與 Phosphatase 活性分別和二十幾種磷脂脂肪酸含量有顯著相關性, 土壤酵素活性與微生物群聚結構關係密切(Waldrop et al., 2000), 微生物群聚結構與土壤酵素活性間的相關性, 顯示微生物群

聚結構影響土壤生態系的元素循環。

土壤微生物與植物間有複雜的交互關係，在森林生態系中扮演重要的角色，微生物多樣性高但大部分無法培養，為了解土壤微生物多樣性，因此，傳統的培養方法外，應用許多微生物遺傳與生理研究方法(Kirk et al., 2004)。

二、土壤微生物分析方法回顧

土壤微生物的群聚調查的傳統實驗方法是平板計數法(plate count)，將土壤樣本或土壤稀釋液塗抹在平板培養基上，培養其中的微生物，待形成菌落後，可以計數樣本中的菌量。直到現在，平板計數法仍廣泛應用在測定環境樣本中具有活性的細胞數目(Barbhuiya et al., 2004; Shen et al., 2008)。因為土壤中細菌的數量龐大且種類眾多，其營養需求各異，因此平板計數法計數的是在該培養基上能夠生長的菌種，及觀察培養出的優勢菌相。但是以平板計數法培養出的菌落，可以染色鏡檢，依照菌落與細胞形態分辨出形態種(morphospecies)，或者進行純化，得到純培養菌株，進行進一步的生理、生化測試或核酸分析、比對，以鑑定菌種。

土壤微生物相的分析可以應用分子生物技術，屬於不仰賴培養(cultural independent)的分析方法，不受培養限制。

基因選殖與定序方法，多利用廣效性引子增幅土壤樣本中所有細菌的 16S rRNA 基因，再使用基因轉殖方法獲得含有單一序列之 clone，經定序後獲得核酸序列(Anderson and Cairney, 2004; Cho et al., 2008)，建立土壤細菌的基因庫，進行樣本間細菌的分類群比較。此方法經比對，可鑑定出部分細菌菌種，了解該棲地之菌種組成與特性(Lipson and Schmidt, 2004; Cho et al., 2008; Tsai et al., 2009)。

變性梯度膠體電泳藉由菌種間DNA序列的組成差異，以化學變性梯度造成不同DNA分子在電泳過程產生變性，DNA分子由於序列組成不同，DNA不同位置的變性難易與變性先後順序也不同，產生結構上的差異，導致核酸電泳泳動速率的不同，在電泳膠體上將不同DNA分開，以獲得核酸指紋圖譜，分析土壤微生物的菌相(Anderson and Cairney, 2004)。理論上，兩條DNA間只要有1個鹼基的差異，就能造成電泳速率差異，在電泳膠體上分辨出來，具有極高偵測敏感度(Myers et al., 1985)，並具有快速分析大量樣本的優點(O'Callaghan et al., 2006)。以變性梯度膠體電泳分析土壤細菌遺傳多樣性，最常選用16S rRNA基因。研究指出以變性梯度膠體電泳分析不同目標片段，圖譜的解析度與多樣性不同，有可能影響研究結論(Li et al., 2009)。過去文獻比較16S rRNA基因不同區域的變性梯度膠體電泳圖譜，結果指出，V3-V5區域的變性梯度膠體電泳指紋圖譜比起其他區域，其多樣性高(Yu and Morrison, 2004；Li et al., 2009)並有較好的解析度(Li et al., 2009)，故本研究選擇V3-V5區域分析土壤細菌群聚之遺傳多樣性。

由限制性片段長度多型性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)發展出端點限制性片段長度多型性(terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)，常應用於土壤微生物相分析。土壤中微生物的核酸經螢光標定的引子進行PCR增幅後，利用內切酶切割片段，再以核酸定序儀分析，獲得片段長度多型性以及相對豐度(Enwall and Hallin, 2009)。限制性片段長度多型性的優點是能自動化分析大量樣本，再現性高，但限制酶的選擇會影響分析結果(Kirk et al., 2004)。

磷脂脂肪酸 (phosphorus lipid fatty acids, PLFAs) 分析法是目前

常研究土壤微生物的方法之一。磷脂脂肪酸是構成細胞膜的主要成分，不同類群的微生物透過不同的生化途徑，產生不同種類的磷脂脂肪酸，有些磷脂脂肪酸只出現特定類群的微生物中，在其他類群的微生物很少出現，細菌、真菌與放線菌各有其代表的磷脂脂肪酸種類(顏等，2006；Drenovsky et al., 2004)。這類化合物在生物死亡後馬上被分解，因此能做為微生物生質量指標，獲得土壤微生物的結構多樣性(顏等，2006；Drenovsky et al., 2004；Kirk et al., 2004)。

群落層級生理譜(community-level physiological profile)是微生物群聚的整體生理表現，目前已有商品化 Biolog Microplate 套組，可提供數十種碳源(GN、GN2 有 95 種; EcoPlates 有 31 種)供測試，快速且方便獲得群落層級生理譜。Biolog Microplate 以 tetrazolium 做為碳源利用的指示劑，當碳源被利用時，tetrazolium 被還原，表現呈色反應。操作方法簡單，將樣本稀釋後，定量加入 Microplate 中，進行培養，以儀器讀取 Microplate 上各碳源試驗孔的吸光值，獲得群落層級生理譜，其吸光值高低反映碳源利用反應強弱。碳源是土壤中微生物生長的限制因子，有研究指出在生態上，碳源利用的功能多樣性，比微生物的物種多樣性更重要(Grayston et al., 1998；Malosso et al., 2005)。群落層級生理譜不僅反映微生物的群聚結構，也能獲得功能多樣性的資訊。這個方法曾被用來研究植物殘體(Malosso et al., 2005)與森林疏伐(Cookson et al., 2008)對微生物群聚結構的影響。

在統計方法上，過去獲得微生物生質量或是菌數(Cho et al., 2008；Grayston and Rennenberg, 2006)等單變量數據時，常態分佈數據可利用變異數分析(analysis of variance)，非常態分布的數據則利用克-瓦二氏單因子等級變異數分析(Kruskal-Wallis rank sum test)。隨著微生物分析方法的演進，常獲得單一樣本有多個變數的資料組型式，

單變量分析無法處理；有時候為了比較多樣性的高低，將數據換算成各種指數，再以單變量分析方法分析。換算指數的方式雖然利於數據詮釋，但是轉型後數據喪失許多資訊(Clark and Warwick, 2001)。多變量分析方法，例如主成分分析(principal component analysis, PCA)或是多元尺度(multidimensional scaling, MDS)，可將多變數資料組，以 2D 或 3D 圖示表現樣本間多變數數值的相似程度。更甚者還能利用相似度分析(analysis of similarity, ANOSIM)檢定以 Bray-Curtis 距離建構的 MDS 圖形(Clark and Warwick, 2001)。

三、植被對土壤微生物之影響

植物不僅是森林生態系重要的生產者，當生態系面臨環境變遷，同時具有維持森林生態系穩定的功能(Suding et al., 2008)。前人研究指出，植群多樣性與其生物量有正相關的趨勢，這種關係主要由植物功能群貢獻，例如豆科與 C4 植物，但罕見物種對於生物量的貢獻也可被偵測到(Tilman et al., 2001)。植群多樣性與群聚間的物種相似度變化，造成生態過程的波動並影響其穩定度，尤其在植物物種多樣性低的生態系中，其效應更明顯(Carney and Matson, 2005；Hooper and Vitousek, 1997)。

地表植被產生的植物殘體以及腐植質，提供微生物生長的養分以及適宜棲地。但不同植物物種間，其植物殘體的化學成分組成有所差異(Quideau et al., 2001)。除了在植物殘體成分上的差異外，各種植物的根部釋出不同化學物質，用來防禦有害生物或是攻擊其他生物以取得更多資源(Bais et al., 2006)，大約 20% 的光合作用產物投資在這些物質上(Haichar et al., 2008)。這類根分泌物(root exudates)可提供土壤微生物生長，以建立植物與微生物間的交互關係；微生物可以提供植

物更多的礦物營養、分解植物毒性物質(phytotoxic compound)、抑制土傳病原菌病害，有益植物生長(Haichar et al., 2008；Bais et al., 2006)。根分泌物直接釋出在根周圍土壤，因此過去認為植被種類對於土壤微生物的影響局限在根圈土壤，但證據指出非根圈土壤(bulk soil)的微生物群聚結構也受到植被種類的影響(Kourtev et al., 2002)，且植被對於土壤生態系的效應至少可維持數年之久(Tilman et al., 2001)。

某些植物類群是微生物的專一性宿主，微生物可與其根部形成共生關係，例如根瘤菌(rhizobia)感染豆科植物根部形成根瘤，外生菌根菌與針葉樹根尖形成菌根，幫助植物吸收、獲得微量元素。

由於不同植物物種地上部殘體與地下部根分泌物成分的差異(Kourtev et al., 2003)，以及微生物與植物宿主間專一的共生關係，因此地表植被相可能影響土壤微生物的多樣性(Ferreira et al., 2000)、群落組成(Han et al., 2007；Kourtev et al., 2002)與功能(Kourtev et al., 2002)。

目前為止，豆科植物對於微生物的影響被研究的最為透徹，種植豆科植物的農田，其土壤氮源受到共生根瘤菌的影響而顯著增加，提高土壤肥沃度(Tortora et al., 2007)。輪作大豆的農田土壤有較高的緩生根瘤菌(bradyrhizobia)遺傳多樣性與菌數(Ferreira et al., 2000)。Han 等人(2007)在大豆田土壤中測量到較高的細菌、真菌、放線菌以及固氮菌的族群量，作者推論是由於豆科植物提高土壤有機質品質並降低土壤碳氮比所致。

植被不但影響土壤菌數，植被種類也影響微生物的群聚結構與功能。磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFA)與 Biolog 的群落層級生理譜顯示大豆田、玉米田與葦葉羊茅 (*Festuca arundinacea*)草皮、

中國薔薇 (*Rosa Chinensis*)灌叢的土壤微生物群聚結構有所差異(Han et al., 2007)。外來種植物的拓殖對於土壤微生物也會產生影響，在 Kourtev 等人 (2002)研究外來種植物日本小檗(*Berberis thunbergii*)與 Japanese stilt grass (*Microstegium vimineum*)對土壤微生物之影響，結果指出外來種與當地原生植物越橘屬(*Vaccinium* sp.)土壤微生物的磷脂脂肪酸組成、土壤酵素活性以及群落層級生理譜，均有顯著差異。Nüsslein 與 Tiedje (1999)利用核酸 GC 分餾法與基因選殖的方法，分析熱帶土壤中的細菌群落，發現森林土壤與草原土壤間的細菌菌相有所差異。外生菌根菌的群聚組成也與其共生的樹種有關，紙皮樺林 (paper birch, *Betula papyrifera*)、顫楊林(trembling aspen, *Populus tremuloides*)與香脂冷杉(balsam fir, *Abies balsamea*)、北美香柏(white cedar, *Thuja occidentalis*)針葉混生林的外生菌根菌群聚組成有所差異，乳菇屬(*Lactarius* sp.)較常在樺木林中發現，*Piloderma* 屬則偏好在針葉林中分佈(DeBellis et al., 2006)。Artz 等人 (2007)發現在伐木後泥炭地在的不同植被演替階段，土壤真菌的群聚組成有所不同，作者認為真菌群聚可做為伐木後泥炭地回復的指標。但也有研究指出，植物種類不影響以 PLFA 總量代表的微生物生質量以及氮礦化作用(Zak et al., 2003)。由上述的文獻得知，過去研究多著重草本植物種類對於土壤微生物的影響或是在農田生態系進行的研究。

植群多樣性的高低影響土壤微生物的群聚結構、生質量與生態過程。熱帶森林的研究顯示植物多樣性顯著影響土壤微生物的群聚結構與碳源利用，腐植質降解速率與微生物生質量隨植物多樣性提高而上升 (Carney and Matson, 2005)。在不同植物豐度草原進行的研究也發現微生物生質量隨植物多樣性提高而遞增，此外，土壤呼吸量、真菌豐多度以及氮礦化作用的速率與植物多樣性有正相關(Zak et al.,

2003)。不同演替階段的亞熱帶森林的研究也指出，土壤細菌的碳源利用多樣性與植群多樣性有正相關(He et al., 2008)。草原研究的作者認為微生物生質量、土壤呼吸量及氮礦化作用速率與植物多樣性間的遞增關係，與植物多樣性增加，伴隨植物生產量提高有關 (Zak et al., 2003)。但 Johnson 等人 (2003)則認為植物功能群的效應比起植物多樣性的高低更為重要，在這篇研究中，只種植羊茅(*Festuca ovina*)的土壤與種植 12 種草本植物的土壤，前者有較高的微生物生質量以及相近的土壤呼吸量。

四、台灣林相種類與紅檜、柳杉林人工林栽種歷史

森林具有調節氣候、水土保持、防災等重要功能，也提供豐富的庇護所供各種生物棲息。台灣的森林資源相當豐富，全島林地面積達 210 萬公頃，其中天然林面積 150 萬公頃，佔台灣林地 72.7%。國有林地中，天然針葉林林相以松樹、鐵杉、檜木與雲杉為主。人工林面積共 42 萬公頃，以針葉林較多，佔人工林面積約 51%，國有林地的人工針葉林以檜木、柳杉、台灣杉及松類人工林為主(2005 年森林資源調查資料，林務局網站: <http://www.forest.gov.tw>)。

紅檜(*Chamaecyparis formosensis*)是台灣特有樹種，與台灣扁柏合稱檜木林，是台灣溫帶林中蓄積量多且價值最高的樹種，佔台灣針葉樹材蓄積量第二位(劉等人，1982)，面積24,800公頃。台灣林業自開發以來，以紅檜與台灣扁柏做為主要伐木樹種。日據時代，多以栽種柳杉取代這兩種生長緩慢的樹種，近年來，由於柳杉造林成效不彰，紅檜人工林生長頗為快速，在29年生時，總生長量雖略小於柳杉，但此時紅檜正處於生長旺盛時期，而柳杉則已達到最大平均材積生長之成熟期，因此推廣紅檜做為造林樹種(劉等，1979)。常見紅檜純林，

或與闊葉樹、扁柏或鐵杉形成混合林。

柳杉(*Cryptomeria japonica*)是台灣重要的造林樹種之一，其引進歷史可追溯到日據時期。由日本土倉株式會社公司（伐木業者）於1891年，自日本引進柳杉，在烏來、龜山一帶種植，但當時栽植失敗。其後成立了日本東京帝國大學台灣演習林，主任西川末三於1901年引進“吉野柳杉”，種植於山谷地形、高濕度與氣候相當接近原產地的溪頭森林遊樂區中。經過十年的栽種之後，日本東京大學教授吉野正男進行調查，結果發現其生長的高度、直徑比日本原產地高出二倍以上，這個成功的經驗，促使台灣演習林、阿里山等地陸續種植柳杉。1909年西川末三引進吉野柳杉來台播種，兩年後正式在台栽植。過去廣泛種植於台灣中海拔地區，現幾乎遍佈全島(王，1963)。

柳杉人工林在種植初期生長快速，但林木栽植二十年後，林冠開始閉鬱，森林進入生長衰退期。柳杉人工林目前是台灣栽種面積最大的人工針葉林林相，面積達三萬五千公頃，佔人工針葉林面積的23% (羅，1985)。此外，柳杉木材的收穫價值無法與進口木材競爭，因此為了要兼顧經濟效益和環境保育，藉由疏伐作業收穫部分木材，以有助於森林的自然更新，增加森林棲地的異質性，達到經營與保育的目的。適當的疏伐也有助於撫育未成熟的各齡級林木，以及減少森林病蟲害的發生(Anderson and Holland, 1982)。

五、森林疏伐對於生態系統的影響

森林疏伐在林業上是重要的經營管理方法。當森林成熟、閉鬱過程中，林木間競爭土壤水分、光照以及養份過於劇烈，減緩樹木生長、降低生長量(Anderson and Holland, 1982)。在人工林中，林木間的競爭更加嚴重。因此透過疏伐調節樹木的生長空間分布(Anderson and

Holland, 1982)，打開林冠，增加到達森林底層的水分與光照，減少林木間競爭，增進樹木生長速率(Grant et al., 2007)，促進森林的更新與演替。

在澳洲西部地區，過去經歷鐵、鋁礦開採歷史，建立在採礦地點的紅桉樹森林(*Eucalyptus marginata*)，通常具有高密度的林木以及許多小苗，或是種植生長速度快的植被(Gardner, 2001)。但這些重新建立的森林其樹木密度高於鄰近的森林(Grant and Koch, 1997；Grant and Loneragan, 1999)，林下植被的生長受到抑制、樹木生長遲緩以及增加水分的使用。需要藉由疏伐，增加樹木產量及減少整體葉面積，以增加集水區的水量(Grant, 2003)。在印度的思茅松(*Pinus kesiya*)森林中，經疏伐後的區域主要由陽性單子葉植物入駐，因這類植物較能耐受因疏伐所提高的土壤溫度與光照度(Arunachalam et al., 1996)。

森林疏伐對於土壤有機質轉換與營養收支平衡有重大影響(Morris and Boerner 1998；Thibodeau et al., 2000)。伐木減少森林生產量，降低碳元素在森林生態系統中的進入量；土壤呼吸量的提升，增加了碳元素的流失(Chatterjee et al., 2008；Janzen, 2006)。但隨著年輕的樹木生長，森林的生長量也隨著時間逐漸回復(Chatterjee et al., 2008)。疏伐造成生態系中有機質的動態變化，對於土壤環境產生影響，可能改變土壤微生物的群聚結構和土壤生化過程。疏伐造成地表生物量到土壤表面的營養轉移(Girisha et al., 2003)，來自疏伐的新鮮綠葉具有豐富的營養，比起落葉更容易被分解(Girisha et al., 2003；O'Connell, 1997)。相反地，因疏伐而遺留的木材比起以葉片為主的腐植質更難分解，養分也較少，具較高碳氮比(O'Connell, 1997)。因此疏伐區域土壤中有機質數量，與未疏伐區域可能有很大的差異。

疏伐提高了森林的氣溫、光照度(Barbhuiya et al., 2004, 2008)以及

氮礦化速率(Zhuang et al., 2005)，改變土壤性質以及降低土壤含水量(Barbhuiya et al., 2004, 2008；Tang et al., 2005)。Chatterjee 等人(2008)的研究指出，疏伐造成土壤密度增加，限制林木根系生長，減少土層的水分與空氣的通透量，改變土壤的物理性質。這些環境因子的改變可能改變土壤微生物群聚結構或提高微生物活性(Mikola et al., 2000; Zhong and Makeshin, 2003)。Thiobodeau 等人 (2000) 在疏伐的香脂冷杉(*Abies balsamea*)森林中發現纖維素分解效率提升，作者推論這種現象可能與疏伐森林中土壤溫度與濕度的上升有關。目前為止，疏伐對於分解速率的影響，所累積的證據不一致，有研究指出疏伐加速分解或降低分解速率，也有不產生影響的結果(Prescott et al., 2000)。

六、疏伐對於土壤微生物生質量、族群、群聚結構與功能之影響

森林疏伐影響土壤養分狀態，疏伐產生大量枝葉，提高土壤養分含量，但是疏伐後林木根分泌物產量減少，因此疏伐後森林土壤微生物可利用基質數量發生改變。疏伐後林下植被生長與演替，改變根分泌物以及有機質種類與數量，對微生物可利用基質種類或數量產生影響，進而影響土壤微生物群聚結構與微生物生質量(Grayston and Rennenberg, 2006)。

過去經歷伐木伐歷史的印度熱帶森林土壤，微生物生質碳及細菌與真菌的族群量較未伐木的森林低，作者認為這和大雨沖刷疏伐區域的植物殘體有關，減少微生物可利用的基質(Barbhuiya et al., 2004, 2008)。Grayston 與 Renneberg (2006)觀察到在濕冷的歐洲山毛櫸(*Fagus sylvatica*)森林中，疏伐降低土壤微生物生質量及其活性；但在另一個乾暖的歐洲山毛櫸森林土壤中，疏伐對於微生物生質量以及活性卻有提升的效應。Hassett 和 Zak (2005) 提出山楊森林中的微生物

生質量與活性的降低與伐木擾動的強度有關。木材收穫造成微生物生質量的改變，其波動程度受到擾動強度的影響，以及伐木後土壤環境所影響(Chatterjee et al., 2008)。

疏伐除了影響微生物生質量與活性外，也影響微生物群聚結構以及功能。松樹林疏伐後 (Maassen et al., 2006)，土壤微生物群聚結構改變顯著。疏伐也改變了土壤微生物的功能多樣性，例如：澳洲的紅桉樹森林(*Eucalyptus marginata*) (Cookson et al., 2008)與歐洲山毛櫸森林研究(Grayston and Renneberg, 2006) 疏伐後，土壤微生物群落層級生理譜(community level physiological profiles, CLPP) 顯著改變。

其他研究中，疏伐對於土壤微生物生質碳以及土壤呼吸 (Maassen et al., 2006)、土壤真菌的群聚結構 (Houston et al., 1998) 及磷脂脂肪酸組成 (Hannam et al., 2006) 無顯著影響。報告指出，針葉林土壤的分解者群落對於伐木引起的環境改變，在初期的階段具有回復性，微生物群聚結構維持穩定(Siira-Pietikäinen et al., 2001)。由上述可知，土壤微生物對於疏伐所產生的反應並無一致結果，其原因可能是除了疏伐外，尚有許多複雜的環境因子影響土壤微生物的反應。

七、國內文獻回顧

國內在自然棲地進行的土壤微生物研究，以塔塔加地區的文獻最為豐富(Yang et al., 2003；Yang et al., 2006；Cho et al., 2008；Lin et al., 2010b)。塔塔加的台灣鐵杉(*Tsuga chinensis*)、雲杉(*Picea Morrisonicola*)、玉山箭竹(*Yushania niitakayamensis*)與高山芒(*Miscanthus transmorrisonensis*)草原，曾被報導過細菌、真菌、放線菌、纖維素分解菌、固氮菌與溶磷菌等六類土壤微生物族群的季節性變動以及在土壤層間的分佈狀況(Yang et al., 2003；Yang et al., 2006；Cho et al.,

2008)。從這些研究得知微生物族群量隨土壤深度增加而遞減，土壤有機層的微生物族群量最高，族群量變化與土壤有機質含量隨深度遞減有關；夏季的微生物族群量與生質量略高於冬季，但差異不顯著；高山芒草原微生物族群量低於雲杉與鐵杉林土壤，可能是因為草原土壤的總有機碳與總氮量低於森林土壤有關。

Cho 等人 (2008)利用基因選殖與定序比對的方法，研究塔塔加草原土壤的微生物群聚結構，以變形菌門(Proteobacteria)佔 44%與酸桿菌門(Acidobacteria) 佔 33%為優勢之菌群。Lin 等人 (2010)研究塔塔加草原與針葉林土壤的微生物群聚，以變形菌門、酸桿菌門與厚壁菌門(Firmicutes)為優勢分類群，結果與 Cho 等人 (2008)相似；他們發現草原土壤微生物多樣性高於森林土壤，草原與森林土壤的優勢分類群有所差異，可能由於草原地是三十年前森林經過林火擾動後更生所致。

前人研究指出影響森林土壤微生物的群聚結構與多樣性會受到地形影響。在福山以樟科、殼斗科與茶科植物為主的闊葉林，其山谷、山腳與山脊三處森林的土壤細菌群落組成有所不同，且山脊有最高細菌種數(Tsai et al., 2009)。Lin 等人 (2010)在鴛鴦湖區域的山峰、山腳與湖岸的紅檜(*Chamaecyparis formosensis*)與扁柏(*Chamaecyparis obtusa*)混合林研究土壤微生物群聚組成，結果顯示三個地理區的群聚組成無明顯差異，但細菌多樣性指數以山腳最高，山峰最低。

台灣過去有關森林土壤微生物的研究，多集中在塔塔加地區(Yang et al., 2003；Yang et al., 2006；Cho et al., 2008)，且著重報導天然林相微生物群聚結構與族群動態(Yang et al., 2003；Yang et al., 2006；Cho et al., 2008)以及不同地形(Tsai et al., 2009；Lin et al., 2010a)對微生物群聚之影響，鮮少探究人工林土壤微生物相以及森林經營對

於土壤微生物之影響。

八、研究目的

了解在不同林相之土壤微生物多樣性：包括草原、雲杉、鐵杉、二葉松、紅檜、天然林及柳杉，以及森林疏伐對於柳杉、紅檜林土壤微生物多樣性之影響。

材 料 與 方 法

一、研究地點

塔塔加(120°52' E, 23°28'N)位處玉山國家公園境內，海拔高度介於2,000~2,950 m，平均相對溼度在75~91%，年平均溫度為9℃，月平均溫度為4.3~12.8℃，平均土壤溫度為11℃(莊等人，2005)，年雨量介於2,800~3,000 mm (Cho et al., 2008)。主要植被為高山芒(*Miscanthus transmorrisonensis*)、玉山箭竹(*Yushania niitakayamensis*)草原與臺灣雲杉(*Picea morrisonicola*)、台灣鐵杉(*Tsuga chinensis*) (莊等人，2005) 與台灣二葉松(*Pinus taiwanensis*)等天然林林相。台灣二葉松為森林火災後，焚燒後區域的先驅物種，亦為當地主要造林樹種(邱與潘，2005)。在土壤性質上，鐵杉林以及雲杉林土壤為砂質壤土(Yang et al., 2003, 2006)，草原土壤則介於粘土與壤土間，皆屬於酸性土壤(莊等人，2005)。

人倫林道位於南投縣魚池鄉境內(120°48' - 121°09'E, 23°28' - 23°55'N)。海拔高度介於 1,250~1,500 公尺，2008 年的年雨量與年均溫分別為 3,851 毫米與 19.3°C (日月潭氣象觀測站 <http://www.cwb.gov.tw/V6/index.htm>)。該區域柳杉人工林的種植面積達 78 公頃，是台灣柳杉造林最成功的地區之一。其林相整齊，樹齡約在 40 年左右。東海大學的熱帶生態學與多樣性中心於 2005 年設置了 12 個 1 公頃的永久樣區(圖一)。於 2007 年 10 月完成所有樣區的疏伐作業，疏伐的處理分成未疏伐之控制組、25%與 50%疏伐處理(圖一)。控制組樣區內大約有 1,000 棵柳杉，除了第 12 號樣區僅有 689 棵；25%疏伐樣區依照各樣區原本柳杉數量，移除 1/4 植株，樣區內有 436~895 棵；50%疏伐樣區有柳杉 418~545 棵(孫義方，個人通訊)。12 個樣區沿

林道設置，第 1 到 4 與第 12 號樣區位處東向坡，5 號樣區位於林道轉折處，為西向坡；第 6 到 11 號樣區為北向坡。實驗設計的方式為區集(block)化處理設置，將鄰近的 3 個樣區作為一個區集單位，共有四個區集，每個區集各包含 3 種處理方式。樣區內直徑超過 20 公分以上的段木移出樣區，其他枝幹以及樹葉則留在樣區內(黃志堅，個人通訊)。

大雪山位於台中縣和平鄉北部，屬於東勢林區大安溪事業區 121 與 123 林班。海拔高度介於 1800~2000 公尺，坡度 20~25°(林等人，2007)。2008 年的年雨量與年均溫分別為 2,477 毫米與 12.0°C (臺中氣象觀測站：<http://www.cwb.gov.tw>)。該區域自 1975 年開始種植紅檜(*Chamaecyparis formosensis*)，於林分 7 年時曾實施疏伐作業，於 2003 年經中興大學李久先教授調查，每公頃紅檜密度約為 900-1800 棵。於 2004 年實施不同強度的疏伐作業。共有三種疏伐處理：重度疏伐每公頃保留約 825 株紅檜，為 45%強度疏伐、中度疏伐每公頃保留約 1000 株紅檜，為 35%強度疏伐以及未疏伐的控制組樣區，每公頃保留約 1800 株紅檜(林等，2007)。採樣樣區除了疏伐處理的紅檜人工林外，也選取了鄰近的天然闊葉林樣區做為比較，共有四個樣區(圖二)。

二、實驗設計與土壤採樣

塔塔加

自 2007 年 7 月至 2008 年 3 月進行一年的季節性採樣，分別在塔塔加的草原、雲杉、鐵杉與二葉松森林(圖三)地點進行採樣，於草原和三種針葉林相分別設置三個採樣點，每個採樣點相距至少 50 公尺。每個採樣點分別採取三個土壤層的樣本，A1(0~10 cm)、A2 (10

~20 cm)與 A3 (20~30 cm)。

人倫林道

分別於 2008 年 1、3 與 8 月，在每個 1 公頃樣區中選取 1 個面積為 20×20 公尺的小樣區，於每個小樣區內等份劃成 4 個面積為 10×10 公尺次樣區，以次樣區中心為採樣點，分別挖取 0~15 公分深的表土以及 15~30 公分下層土，分別將 4 個表土樣本等體積混合代表小樣區。這些土壤樣本以平板計數法進行微生物族群的測量。因此每一季的一個處理下分別各有 4 個表土與下層土樣本做為重複數。

為了提升採樣代表性以及增加樣本數，於 2008 年 10 月開始改變採樣設計，在不同疏伐程度的樣區中，選取三個距離 30 公尺以上，面積為 20×20 公尺的小樣區，於每個小樣區內等份劃成 4 個面積為 10×10 公尺次樣區，以各次樣區中心為採樣點(圖四)，挖取 0~15 公分深的表土，分別將 4 個表土樣本等體積混合代表小樣區，每個樣區有 3 個混合土壤樣本。每一季的每個處理下有 12 個表土樣本做為重複數。

大雪山

大雪山的紅檜人工林樣區在 2008 年 10 月採取土壤樣本。樣區中選取三個距離 30 公尺以上，面積為 20×20 公尺的小樣區，於每個小樣區內等份劃成 4 個面積為 10×10 公尺次樣區，於次樣區中心處挖取 0~15 公分深的表土，分別將 4 個表土樣本等體積混合代表小樣區，每個樣區有 3 個混合土壤樣本。因此各處理下有 12 個表土樣本做為重複數。

三、土壤樣本處理與保存

自野外帶回實驗室的土壤樣本，每份重約 100 g，以 2 mm 孔徑的篩網過篩，過篩後的土壤分成兩份，用於平板計數與群落層級生理譜 (community-level-physiological-profile, CLPP) 分析的土壤樣本儲存於 4°C 下保存，於一周內完成分析；另一份土壤樣本則保存於 -20°C，作為變性梯度凝膠電泳 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 分析之用，並於 48 小時內完成土壤 DNA 的萃取。

四、計數微生物族群

1. 製備土壤懸浮液與平板計數法

將 10 g 過篩的土壤加入 90 ml 已滅菌的 0.1% 水瓊脂稀釋液中，使用旋轉振盪器充分混合均勻。將此十倍稀釋液繼續使用 0.1% 水瓊脂稀釋液進行連續序列稀釋，進行每個稀釋步驟都應使用旋轉振盪器混合均勻，並更換無菌吸管尖(張，1998)。

使用平板培養法測量細菌、放線菌、真菌、固氮菌、溶磷菌以及纖維素分解菌等六類土壤微生物的族群量。每皿培養基添加 500 μ l 的土壤稀釋液。在無菌操作下，使用滅菌的 L 型玻璃棒，將土壤稀釋液在平板培養基上塗抹均勻，倒置於 (25 \pm 1°C) 培養箱內培養。每個樣區採取 3 個土壤樣本做為重複，土壤樣本分別有 3 皿重覆，因此一個樣區的重複數為 9 皿。

分別使用營養瓊脂培養基(Cho et al., 2008)培養細菌，添加 10^{-4} 與 10^{-5} 稀釋倍數的土壤懸浮液，培養一周後計數。以澱粉-酪蛋白培養基 (starch-casein medium) 培養放線菌(Mackay, 1977)，使用 10^{-3} 與 10^{-4} 稀釋倍數，培養兩周後計數。使用玫瑰紅瓊脂培養基(Cho et al., 2008) 培養真菌，使用 10^{-2} 與 10^{-3} 稀釋倍數，培養五天後計數。纖維素分解

菌以 Mandels-Reese 培養基(Cho et al., 2008)培養，使用 10^{-3} 與 10^{-4} 稀釋倍數，培養七天後噴灑 0.1% 剛果紅(congo red)，計數產生淡黃色清晰環之菌落數。固氮菌以無氮甘露醇培養基(Johnson and Curl, 1972)培養，使用 10^{-3} 與 10^{-4} 稀釋倍數，培養七天後計數平板培養基上所有菌落數。溶磷菌用磷酸鈣-蔗糖基礎鹽類培養基培養(Chuang et al., 2007)，使用 10^{-3} 與 10^{-4} 稀釋倍數，培養五天後計數產生清晰環之細菌或真菌菌落數。培養基配方見附錄一，抗生素配方見附錄二。

2. 土壤含水率之測量與微生物族群之計算方法

秤取過篩後的土壤約 10 g，以 70 °C 烘乾至重量不再改變(通常需要 2-3 天)，秤取土壤乾重換算含水率(Giai and Boerner, 2007)。測量的含水率，用以計算每克乾重土壤含有的微生物族群量。

$$\text{土壤含水率} = W - D / W$$

W：土壤濕重(soil wet weight)

D：土壤乾重(soil dry weight)

土壤微生物族群計算方法

$$\text{每克乾重土壤之微生物量} = N / 0.5 C (1 - M)$$

N：平板培養基上的菌落數(number of colony)

C：稀釋濃度(concentration)

M：土壤含水率(soil moisture)

五、群落層級生理譜(community level physiological profiles, CLPP)

群落層級生理譜以 Biolog GN2 微量盤(GN2 MicroPlate™, Biolog, Inc., USA)上 95 種碳源(附錄三)進行測量。土壤稀釋液的製備步驟、培養條件與群落層級生理譜的測量方法如下：

1. 取 10 g 新鮮土壤、3 g 滅菌玻璃珠(glass beads, 3 mm)，加入裝有 90 ml 無菌生理食鹽水的錐形瓶中。
2. 以 140 rpm 的速度震盪一小時後，取 30 ml 的微生物懸浮液以 700 g 的速度離心 10 分鐘，以沉澱懸浮的土壤顆粒。
3. 取出上清液並稀釋至千倍。
4. 將稀釋液倒入 9 cm 直徑的無菌培養皿中，以八爪微量吸管接種至 GN2 MicroPlate™ 上，每個孔洞接種稀釋液 150 μ l。
5. 置於 25 °C 下進行反應，利用 Microstation ID System(Biolog, USA) 測量與記錄反應第 5 天，在 590 nm 波長下的吸收值。

六、土壤細菌群聚結構分析

1. 土壤 DNA 萃取方法

以 PowerSoil™ DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, Inc., USA) 萃取土壤菌體的 DNA，參考使用手冊，方法如下：

1. 秤取 0.25 g 的過篩的土壤，加入 PowerBead 管子中，溫和震盪以混合樣本。
2. 加入 60 μ l C1 溶液並翻轉管子數次，將管子放於震盪器上開至高轉速，震盪 10 分鐘，以打破細胞。
3. 置於 70 °C 作用 10 分鐘。
4. 管子以 10,000 g 離心 30 秒，將懸浮液移至乾淨的 1.5 ml 離心管中。
5. 加入 250 μ l C2 溶液後震盪 5 秒，置入 4 °C 冰箱 5 分鐘。

6. 管子離心 10,000 g 1 分鐘，抽取 600 μ l 上清液至乾淨的 1.5 ml 離心管。
7. 加入 200 μ l C3 溶液後短暫震盪，置入 4 $^{\circ}$ C 冰箱 5 分鐘。
8. 以 10,000 g 離心 1 分鐘，吸取 750 μ l 上清液移至廠商提供的 2 ml 離心管。步驟 5-8 目的為去除腐植酸。
9. 加入 1200 μ l C4 溶液後震盪 5 秒，使其混合均勻。
10. 吸取 675 μ l 混合液至 spin filter 後離心 10,000 g 1 分鐘，移除滲出液。
11. 繼續加入 675 μ l 的懸浮液至 spin filter 後離心 10,000 g 1 分鐘，移除滲出液，加入剩餘的懸浮液至 spin filter 後以 10,000 g 離心 1 分鐘。
12. 加入 500 μ l C5 溶液並離心以 10,000 g 離心 30 秒，移除滲出液。管子以 10,000 g 離心 1 分鐘，spin filter 小心置入新的 2 ml 離心管中，避免接觸到任何殘餘的 C5 溶液。
13. 加入 100 μ l 無菌水於 spin filter 的白色膜上，將 DNA 溶出，以 10,000 g 離心 30 秒。最後移除 spin filter，DNA 保存於-20 $^{\circ}$ C 冰箱。

為了增加 DNA 的萃取量，在震盪 beads 與土樣，打破菌體細胞壁的步驟後，增加以 70 $^{\circ}$ C 作用 10 分鐘的步驟。於 0.8%瓊脂膠體 (agarose, 波仕特生物科技股份有限公司，台灣)上，使用 0.5X TAE buffer，以 100 V 電壓電泳 30 分鐘，確認 DNA 產量並利用 1,000-bp 分子量標幟(marker, 波仕特生物科技股份有限公司，台灣)比對產物的分子大小，經 Ethidium bromide (EtBr, Sigma, USA) 染色後，在 UV 光下照相記錄。萃取的土壤 DNA 保存於-80 $^{\circ}$ C 冰箱。

2. 聚合酶連鎖反應

增量複製土壤中細菌的 16S rRNA 基因，選用引子 341f-GC (5'-CGC CCG CCG CGC CCC GCG CCC GTC CCG CCC CCG CCC-CCT ACG GGA GGC AGC AG -3') 與 907r (5'-CCG TCA ATT CCT TTR AGT TT -3') (明新生物科技公司合成) (Li et al., 2009) 擴增 V3 - V5 區域，所獲 PCR 產物供 DGGE 分析。根據 Li 等人(2009) 以 DGGE 分析土壤細菌 16S rRNA 基因各區域片段，結果顯示 V3 - V5 區域比起其他區域有較好的解析度，故選用此片段分析。每 100 μ l PCR 反應中含引子 100 nM，1.5 mM $MgCl_2$ ，4 U *Taq* DNA Polymerase (MBI Fermentas, USA)，100 nM dNTPs (波仕特生物科技股份有限公司，台灣) 及 10 倍稀釋的模板 DNA 4 μ l。反應溫度條件如下，DNA 在 94°C 下變性，第一個循環作用 5 分鐘，之後每個循環 1 分鐘，55°C 下引子煉合 1 分鐘，72°C 下延伸 1 分鐘，作用 35 個循環，最後在 72°C 下反應五分鐘。在 1.2% 瓊脂膠體上，取 5 μ l PCR 產物，以 100 V 電壓電泳 30 分鐘，確認 PCR 產物產量。利用 100-bp 分子量標幟 (marker, 波仕特生物科技股份有限公司，台灣) 比對產物的分子大小，經 EtBr 染色後，在 UV 光下照相記錄。

3. PCR 產物的濃縮(酒精沉澱)

將 70 μ l PCR 產物，加入三倍體積 95% 酒精 210 μ l 後，以 14,000 g 的速度離心十分鐘。倒掉上清液後，置於無菌操作台風乾。加入 20 μ l 無菌水回溶後，保存於 -20°C。濃縮的 PCR 產物於 24 小時內進行變性梯度膠體電泳分析。

4. 變性梯度凝膠電泳

使用 6% 丙烯醯胺 (acrylamide, Bio-Rad Laboratories, USA) 電

泳膠，使用尿素(urea, Bio-Rad Laboratories, USA)與甲醯胺 (formalde, Invitrogen, USA)做為化學變性劑，變性梯度範圍 30-50%，進行電泳。PCR 產物在 60°C 下，以 100 伏特電壓進行 12 小時電泳。膠體經 EtBr 染色 15 分鐘後，以二次水脫色 30 分鐘，於 UV 光下照相記錄。使用 Quantity One 膠體分析軟體(Bio-Rad Laboratories, USA)標定 DGGE 條帶位置，經比對後將條帶數據整理成矩陣模式後統計分析。

七、統計分析方法

由平板培養法估計的微生物族群數，使用 SAS 統計軟體(SAS Institute Inc., 2004)分析，若數據非常態分布，則經對數轉型後再進行常態檢定。常態分布的數據以變異數分析(analysis of variance, ANOVA)檢測植被與疏伐處理間差異，以 Duncan's multiple range test 進行兩兩比較，檢定組間差異。若數據非常態分佈則使用無母數分析的克-瓦二氏等級變異數分析(Kruskal-Wallis rank sum test)進行檢定，使用 Wilcoxon rank sum test 進行兩兩比較，檢定組間差異。

DGGE 與 Biolog 數據以 Primer v5 統計軟體(Clarke and Warwick, 2001)分析，計算樣本間的 Bray-Curtis 相似度，以 non-metric multi-dimensional scaling (MDS) 2D 圖形顯示樣本間的細菌群落組成或群落層級生理譜的相似度，利用相似度分析(analysis of similarity, ANOSIM)檢定組間差異。相似度分析以 Global 測試所有組別間差異是否顯著，再以成對比較(pairwise)分別比較組間差異。其中 R 值代表組間差異大小，數值通常介於 0~1 之間，數值越大表示組間差異越大。

計算 DGGE 條帶與群落層級生理譜的 Shannon 多樣性指數 (Shannon and Weaver, 1949)與群落層級生理譜的 average well color development (AWCD)(Garland and Mills, 1991)。Shannon 多樣性指數

為原始數據的指數轉型，故分佈與轉型前的原始數據不同，因此利用克-瓦二氏等級變異數分析(K-W test)進行檢定。DGGE 條帶數與 AWCD 數據若為常態分佈利用單因子變異數分析檢定在疏伐處理間是否有顯著差異，數據若非常態則使用克-瓦二氏等級變異數分析進行檢定。

微生物族群量與環境因子間的關係，則利用 R 統計軟體以複迴歸(multiple-regression)方法檢測對微生物族群量的變異貢獻度顯著的環境因子。將環境因子：土壤含水率、pH 值、有機質含量、全氮、無機氮、有效磷、水溶性磷、硫酸鹽、微生物生質碳、微生物生質氮、土壤酵素活性(賴朝明，未發表數據) 與土壤呼吸(郭耀綸，未發表數據)等一起分析。微生物的碳源利用反應與環境因子間的關係，同樣利用 R 統計軟體以複迴歸(multiple-regression)方法檢測對微生物族群量貢獻度顯著的環境因子。將環境因子：土壤含水率、pH 值、有機質含量、全氮、無機氮、微生物生質碳、微生物生質氮(賴朝明教授，未發表數據)一起分析。使用逐步選擇法(stepwise)挑選貢獻度高的變數，選取 AIC 值最低的模式(model)作為迴歸模型，再重新進行一次複迴歸分析，找出貢獻度顯著($p < 0.05$)的因子，若係數(coefficient)為正值，表示與應變數(菌數或者碳源利用反應)有正相關，若係數為負值，則有負相關。檢視殘差圖的分布模式可判斷模型可信度，若殘差為常態分布則代表數據大多數變異可由模型解釋。

變異數分析、克-瓦二氏等級變異數分析、相似度分析與複迴歸分析設定 p 值 < 0.05 視為差異顯著。部分相似度分析中三組以上的整體比較有顯著差異，但是兩兩成對比較由於樣本數小的關係無法達到 p 值 < 0.05 ，因此設定兩兩比較的 p 值 < 0.1 視為差異顯著。

結 果

一、微生物族群在林相間季節性變化

調查五種植被相土壤六類微生物菌數的季節性變化，包括草原、鐵杉、雲杉、二葉松林與柳杉林的細菌、真菌和放線菌等三個分類群(圖五)，與纖維素分解菌、固氮菌、溶磷菌等三個功能群(圖五)，其結果分析如下：

細菌

不同植被相土壤的細菌菌數具有季節性的波動：草原在夏秋兩季菌數較低，春冬兩季較高；鐵杉、雲杉與二葉松林則是在夏季有最低的細菌數；柳杉林土壤細菌菌數在冬季較低，春夏兩季較高。

夏季時，柳杉林的土壤細菌數顯著最高有 $1.9 \pm 1.1 \times 10^7$ CFU/g dry soil (ANOVA, $p < 0.001$)，鐵杉林菌數最低 $1.7 \pm 1.1 \times 10^5$ 。鐵杉林在秋季細菌數最高有 $1.1 \pm 1.0 \times 10^7$ CFU/g dry soil，雲杉林其次，草原細菌數最低 $0.7 \pm 1.0 \times 10^6$ CFU/g dry soil (ANOVA, $p < 0.01$)。冬季時，二葉松有最高的土壤細菌數，但林相間無顯著差異。整體而言，柳杉林土壤細菌數無明顯季節變化，三季調查的平均菌數介於 $7.8 \pm 3.4 \times 10^7 \sim 1.9 \pm 1.1 \times 10^8$ CFU/g dry soil。草原、鐵杉、雲杉與二葉松土壤細菌數的變化量介於 $10^5 \sim 10^7$ CFU/g dry soil。

放線菌

在 4 種林相與草原中，柳杉林在三個調查季節中的土壤放線菌數顯著較高，夏季 $7.9 \pm 5.3 \times 10^5$ CFU/g dry soil (Kruskal-Wallis test, $p < 0.05$)，冬季 $6.8 \pm 3.9 \times 10^5$ CFU/g dry soil (ANOVA, $p < 0.001$)，春季 $6.3 \pm 4.1 \times 10^5$ CFU/g dry soil (ANOVA, $p < 0.001$)。草原、雲杉、二葉松

與鐵杉的放線菌菌數在春季達到最高 $4.9\pm 3.8\times 10^4\sim 5.8\pm 4.5\times 10^5$ CFU/g dry soil，雲杉林菌數顯著最低(ANOVA, $p<0.001$)，夏季放線菌數最低範圍介於 $2.9\pm 1.7\times 10^3\sim 6.8\pm 5.5\times 10^3$ CFU/g dry soil。

真菌

草原與不同林相真菌數的季節變動有所不同，草原在秋季真菌菌數最低，冬季最高。鐵杉林在秋冬兩季最高。雲杉與二葉松林的真菌數在夏季最低，春冬兩季較高。柳杉林土壤真菌數較為穩定，在春季時略低。夏季時柳杉林的真菌數最高 $8.0\pm 8.5\times 10^4$ CFU/g dry soil，雲杉林最低 $1.2\pm 0.5\times 10^3$ CFU/g dry soil (ANOVA, $p<0.001$)。秋季時鐵杉林真菌數最高 $1.8\pm 1.4\times 10^5$ CFU/g dry soil，草原最低 $2.1\pm 4.5\times 10^5$ CFU/g dry soil (ANOVA, $p<0.001$)。冬季時鐵杉林真菌數 $1.8\pm 1.3\times 10^5$ CFU/g dry soil，顯著高於其他四種林相(ANOVA, $p<0.05$)。春季鐵杉林真菌數略高於其他四種林相，二葉松林最低，但是差異未達顯著。五種植被相在冬季時普遍都有較高的真菌數。

纖維素分解菌

草原、鐵杉、雲杉與二葉松林的纖維素分解菌在夏季菌數最低，草原與鐵杉在秋季時菌數最高，雲杉與二葉松則在冬季時菌數達到最高。柳杉林的纖維素分解菌數在夏季最高，其數量相對穩定。夏季時柳杉林的纖維素分解菌數 $2.5\pm 1.4\times 10^5$ CFU/g dry soil (ANOVA, $p<0.001$)，顯著高於另外林相與草原，其數量多介於 $10^3\sim 10^4$ CFU/g dry soil。秋季的鐵杉林纖維素分解菌數 $2.9\pm 1.6\times 10^5$ CFU/g dry soil，略高於草原，雲杉與二葉松林菌數最低，但其差異並不顯著。四種林相與草原的纖維素分解菌數在冬季時差異並不顯著，鐵杉菌數最高 $2.2\pm 1.5\times 10^5$ CFU/g dry soil，柳杉林其次 $1.6\pm 1.7\times 10^5$ CFU/g dry soil，

草原菌數最低僅 $6.6\pm 8.9\times 10^3$ CFU/g dry soil。春季時柳杉林的纖維素分解菌數最高 $2.2\pm 1.4\times 10^3$ CFU/g dry soil，二葉松菌數最低 $2.8\pm 4.0\times 10^3$ CFU/g dry soil，但春季纖維素分解菌數在五種植被相間無顯著差異。

固氮菌

草原的固氮菌數在秋季最低，數量約在 $2.0\pm 1.8\times 10^4$ CFU/g dry soil 左右；鐵杉的固氮菌數在秋冬兩季略低；雲杉的季節性波動不大，固氮菌數平均 $1.5\pm 1.2\times 10^6$ CFU/g dry soil；二葉松在冬季數量最高，秋季最低；柳杉林的菌數無太大季節性波動，冬季略低。夏季與春季的固氮菌數，皆以柳杉林最高，鐵杉林較少，但是差異並不顯著。秋季時雲杉有最高的固氮菌數 $1.5\pm 2.0\times 10^6$ CFU/g dry soil，草原菌數最低僅 $2.0\pm 1.9\times 10^4$ CFU/g dry soil (ANOVA, $p<0.001$)。冬季時二葉松的固氮菌數最高 $7.9\pm 4.7\times 10^6$ CFU/g dry soil，鐵杉林菌數最低 $2.2\pm 1.6\times 10^5$ CFU/g dry soil (ANOVA, $p<0.001$)。整體而言，固氮菌數在秋季較低，春夏兩季數量較高。

溶磷菌

草原與鐵杉林的溶磷菌數在夏季最低，冬季最高；雲杉林在夏秋菌數略低，秋冬較高；二葉松的溶磷菌數在夏秋兩季最低，夏季 $2.3\pm 1.2\times 10^3$ CFU/g dry soil，秋季 3.5×10^3 CFU/g dry soil，冬季最高 $1.1\pm 1.2\times 10^5$ CFU/g dry soil；柳杉林溶磷菌數在夏季最低，春季最高。夏季以柳杉林溶磷菌數最高 $3.0\pm 2.7\times 10^4$ CFU/g dry soil，二葉松數量最低，僅 $2.3\pm 1.2\times 10^3$ CFU/g dry soil；秋季時鐵杉林有最高的溶磷菌數 $1.8\pm 3.5\times 10^5$ CFU/g dry soil，二葉松菌數依然最低，只有 $3.5\pm 3.6\times 10^3$ CFU/g dry soil；冬季以柳杉與二葉松溶磷菌數最高，分別為柳杉

$1.3 \pm 0.9 \times 10^5$ CFU/g dry soil 二葉松 $1.1 \pm 1.2 \times 10^5$ CFU/g dry soil，草原菌數較低 $3.2 \pm 4.3 \times 10^4$ CFU/g dry soil，但此三季的林相間差異並不顯著。春季時柳杉林有顯著較高的溶磷菌數 $3.0 \pm 2.6 \times 10^5$ CFU/g dry soil (ANOVA, $p < 0.05$)。

二、不同林相間之土壤細菌群聚結構之比較

比較塔塔加雲杉、鐵杉、二葉松與草原及大雪山紅檜人工林、天然林以及人倫林道的柳杉人工林共七種植被的土壤細菌群落組成(圖六、七)，結果顯示地表植被種類對於細菌群落組成影響顯著(表一)(Global $R=0.738$, $p < 0.001$)。在七種林相間彼此的細菌群落組成大都有顯著差異($p < 0.1$)，只有塔塔加的雲杉與鐵杉林、草原與二葉松與大雪山的天然林及紅檜林，三組植被相的細菌群落組成差異未達顯著。

若將 MDS 圖形上樣本依照塔塔加、大雪山與人倫林道的地理位置標示(圖八)，則相似度分析結果亦指出差異顯著(Global $R=0.726$, $p < 0.001$)，且 pairwise test 結果顯示三個地理區彼此間土壤細菌群落結構組成有顯著差異($p < 0.001$ in each pair)(表二)。

變性梯度膠體電泳條帶數與所計算出的 Shannon 多樣性指數(表三)，以雲杉林的土壤細菌遺傳多樣性最高，其次是鐵杉林，以紅檜林多樣性最低，但七種植被相無差異顯著。

三、不同林相間群落層級生理譜之比較

比較大雪山紅檜人工林以及人倫林道的柳杉人工林的碳源利用，MDS 圖形顯示土壤樣本的整體碳源利用各自依照所處林相聚集在一起(圖八)。相似度分析指出紅檜以及柳杉林間整體碳源利用有顯著差異(Global $R=0.302$, $p < 0.001$)。

四、疏伐對於微生物族群之影響

調查柳杉林疏伐後第一、二年，控制組與兩種疏伐處理土壤中六類微生物菌數的季節性變化(圖十)，其分析結果如下：

細菌

柳杉林疏伐後半年內疏伐處理樣區細菌菌數顯著高於控制組，但是在疏伐後第六個月至疏伐後第二年監測期間，處理間無顯著差異。2008年冬季人倫林道的土壤細菌菌數範圍介於 $3.9 \times 10^6 \sim 2.3 \times 10^7$ CFU/g dry soil，25%與50%疏伐樣區的土壤細菌數顯著高於控制組樣區(ANOVA, $p < 0.01$)，50%疏伐樣區土壤的細菌數為 $1.4 \pm 0.3 \times 10^7$ CFU/g dry soil，25%疏伐樣區 $1.2 \pm 0.4 \times 10^7$ CFU/g dry soil，控制組樣區 $7.8 \pm 3.5 \times 10^6$ CFU/g dry soil，但在表土與下層土間的細菌菌數差異並不顯著。2008年春季範圍介於 $3.2 \times 10^6 \sim 5.5 \times 10^7$ CFU/g dry soil，2008年夏季範圍介於 $4.1 \times 10^6 \sim 3.4 \times 10^7$ CFU/g dry soil，在春夏兩季疏伐效應與土層效應皆不顯著。疏伐後前兩季的土壤樣本皆顯示疏伐樣區的細菌菌數皆有高於控制組樣區的趨勢。疏伐後第二年，2009年夏季土壤樣本的細菌數介於 $2.3 \times 10^6 \sim 1.6 \times 10^8$ CFU/g dry soil，疏伐效應同樣不顯著。季節性採樣結果顯示，冬季土壤的平均細菌數較低。

放線菌

放線菌在疏伐後兩年中共四季的調查，疏伐對於放線菌族群量無顯著影響。2008年冬季土壤放線菌菌數範圍介於 $1.9 \times 10^5 \sim 1.5 \times 10^6$ CFU/g dry soil，春季範圍介於 $2.1 \times 10^5 \sim 1.7 \times 10^6$ CFU/g dry soil，夏季範圍介於 $1.2 \times 10^5 \sim 3.0 \times 10^6$ CFU/g dry soil。疏伐後第二年，2009年夏季土壤放線菌菌數介於 $1.2 \times 10^5 \sim 2.9 \times 10^6$ CFU/g dry soil 間。夏季土壤的放線菌菌數高於春冬兩季。

雖然森林疏伐對於土壤放線菌菌數無顯著影響，但是放線菌菌數在坡向的分佈上有明顯差異，東向坡的樣區(plot 1~5 and 12) 土壤放線菌菌數四季平均 $1.2 \pm 0.6 \times 10^6$ CFU/g dry soil，高於北向坡的樣區(plot 6~11)，北向坡放線菌菌數平均 $6.2 \pm 3.9 \times 10^5$ CFU/g dry soil(圖十一)。

真菌

在疏伐後第一年的結果顯示，疏伐後的六個月內，疏伐樣區的土壤真菌菌數顯著高於控制組(ANOVA, $p < 0.05$)，疏伐後第九個月以後的季節性監測，真菌菌數處理間無顯著差異。2008年冬季範圍介於 $5.8 \times 10^4 \sim 4.6 \times 10^5$ CFU/g dry soil 兩種強度疏伐樣區真菌菌數高於控制組，檢定值介於顯著邊界值(ANOVA, $p = 0.07$)。表土真菌菌數顯著高於下層土(ANOVA, $p < 0.01$)。春季範圍介於 $1.5 \times 10^4 \sim 3.4 \times 10^5$ CFU/g dry soil 間，疏伐樣區真菌菌數顯著高於控制組(ANOVA, $p < 0.05$)，土層對於真菌菌數影響顯著 (ANOVA, $p < 0.05$)，表土高於下層土。秋季的真菌菌數介於 $1.1 \sim 6.3 \times 10^4$ CFU/g dry soil 間，疏伐後第二年冬季 $2.2 \times 10^4 \sim 3.4 \times 10^5$ CFU/g dry soil，春季 $2.2 \times 10^5 \sim 8.7 \times 10^5$ CFU/g dry soil，夏季範圍介於 $6.5 \times 10^3 \sim 2.6 \times 10^5$ CFU/g dry soil，在這四個季節的土壤樣本裡，疏伐處理間真菌菌數無顯著差異。

固氮菌

柳杉林疏伐與土壤層對於固氮菌菌數無顯著影響。2008年冬季範圍介於 $3.4 \times 10^5 \sim 6.1 \times 10^6$ CFU/g dry soil，春季 $6.7 \times 10^5 \sim 2.3 \times 10^7$ CFU/g dry soil，夏季 $3.7 \times 10^5 \sim 2.3 \times 10^7$ CFU/g dry soil。2009年夏季 $8.1 \times 10^5 \sim 1.1 \times 10^7$ CFU/g dry soil。春季的固氮菌菌數高，冬季低。夏季的土壤樣本具有年間的差異，2008年的固氮菌菌數高於2009年。

變異數分析結果顯示，土層對於固氮菌菌數無顯著影響。

溶磷菌

溶磷菌是三類微生物功能群中數量最低的類群，數量介於 $10^3 \sim 10^6$ CFU/g dry soil。變異數分析結果顯示，疏伐與土層對於溶磷菌菌數影響並不顯著。2008 年冬季範圍介於 $1.1 \times 10^4 \sim 3.3 \times 10^5$ CFU/g dry soil，春季 $2.7 \times 10^4 \sim 8.4 \times 10^5$ CFU/g dry soil，夏季 $2.8 \times 10^3 \sim 2.1 \times 10^5$ CFU/g dry soil。2009 年夏季 $4.6 \times 10^3 \sim 1.7 \times 10^5$ CFU/g dry soil，春季溶磷菌菌數較高。

纖維素分解菌

柳杉林疏伐後第一年內的四季調查結果發現，疏伐樣區的纖維素分解菌菌數皆高於控制組樣區，但差異不顯著，疏伐後第二年則未觀察到這樣的現象。2008 年冬季纖維素分解菌菌數範圍介於 $2.0 \times 10^4 \sim 4.9 \times 10^5$ CFU/g dry soil，春季 $3.6 \times 10^4 \sim 6.6 \times 10^5$ CFU/g dry soil，夏季 $4.1 \times 10^4 \sim 4.8 \times 10^5$ CFU/g dry soil，秋季纖維素分解菌菌數最低，範圍介於 $1.1 \times 10^4 \sim 6.3 \times 10^4$ CFU/g dry soil 間。疏伐後第二年，2009 年冬季纖維素分解菌菌數 $2.2 \times 10^4 \sim 3.4 \times 10^5$ CFU/g dry soil，春季 $2.2 \times 10^5 \sim 8.7 \times 10^5$ CFU/g dry soil，夏季 $2.5 \times 10^5 \sim 1.5 \times 10^6$ CFU/g dry soil。大部分的調查季節中，土層對於纖維素分解菌菌數的影響並不顯著，只有在 2008 年春季的土壤樣本發現，表土具有較高的纖維素分解菌菌數。

五、土壤菌數與環境因子間關係

將細菌、真菌與纖維素分解菌菌數與土壤性質進行複迴歸 (multiple-regression) 分析(表四)，結果顯示細菌菌數與土壤中有效磷 (coefficient= 1.32×10^7 , $p < 0.05$)、水溶性磷 (coefficient= 3.14×10^7 ,

$p < 0.001$)、土壤呼吸量(coefficient= 1.96×10^7 , $p < 0.01$)及土壤濕度(coefficient= 3.57×10^7 , $p < 0.05$)有顯著正相關，但與生質碳有顯著負相關(coefficient= -3.08×10^7 , $p < 0.05$)，複迴歸模式的 $R^2 = 0.807$ ，Adjusted $R^2 = 0.665$ 。真菌菌數與有機質含量(coefficient= 1.92×10^5 , $p < 0.001$)、纖維素酶活性(coefficient= 1.20×10^5 , $p < 0.05$)有顯著正相關，複迴歸模式的複迴歸模式的 $R^2 = 0.801$ ，Adjusted $R^2 = 0.713$ 。纖維素分解菌與土壤 pH(coefficient= 3.73×10^5 , $p < 0.001$)、有機質含量(coefficient= 2.80×10^5 , $p < 0.01$)、有效磷(coefficient= 1.86×10^5 , $p < 0.01$)、水溶性磷(coefficient= 1.59×10^5 , $p < 0.05$)、酸性磷酸脂酶(coefficient= 1.82×10^5 , $p < 0.05$)、生質氮(coefficient= 1.64×10^5 , $p < 0.05$)、土溫(coefficient= 1.81×10^5 , $p < 0.05$)有顯著正相關， $R^2 = 0.865$ ，Adjusted $R^2 = 0.707$ 。

六、疏伐對細菌群落之影響

分析柳杉人工林疏伐後第一、二年土壤細菌的變性梯度膠體電泳圖譜(圖十二)，結果顯示 2008 年 10 月(Global $R = 0.374$, $p < 0.001$)、2009 年 1 月(Global $R = 0.779$, $p < 0.001$)與 2009 年 3 月(Global $R = 0.557$, $p < 0.001$)的土壤細菌群落在三種疏伐處理間彼此差異皆顯著($p < 0.001$, in each pair) (表五)，MDS 圖形上相同處理的樣本各自群聚在一起(圖十三)。但在 2009 年 8 月與 2009 年 10 月的樣本的變性梯度膠體電泳分析結果，疏伐處理的細菌群落組成與控制組無顯著差異(Global $R = 0.028$, $p > 0.05$ in Aug-09； Global $R = 0.008$, $p > 0.05$ in Oct-09)，MDS 圖形上的樣本未依照疏伐處理分群，而是混合在一起(圖十三)。

分析大雪山紅檜人工林疏伐後第四年的土壤細菌的變性梯度膠體電泳圖譜(圖十四)，結果顯示未疏伐與兩種疏伐強度處理的細菌群聚結構組成有顯著差異(Global $R = 0.486$, $p < 0.05$) (表六、圖十五)，未

疏伐控制組分別與 35%($R=778, p<0.1$)、45%($R=963, p<0.1$)疏伐處理差異達顯著，35%與 45%兩種強度疏伐的細菌群聚組成無顯著差異($R=-0.167, p>0.05$)。

變性梯度膠體電泳條帶數(表七)與計算出的 Shannon 多樣性指數皆顯示相同的趨勢(表八)，疏伐後第一、二年，2008 年 10 月的樣本顯示土壤細菌的遺傳多樣性在疏伐處理間有顯著差異(條帶數：ANOVA, $p<0.001$ ；Shannon 指數：K-W test, $p<0.001$)，50%疏伐處理的多樣性最高與控制組顯著高於 25%疏伐處理($p<0.05$)，但 50%疏伐處理與控制組間差異不顯著。2009 年 1 月樣本在疏伐處理間多樣性的變化與前一季相似，疏伐處理間差異顯著(條帶數：ANOVA, $p<0.05$ ；Shannon 指數：K-W test, $p<0.01$)，同樣以 50%疏伐處理的多樣性最高顯著高於 25%疏伐處理($p<0.05$)，但控制組與其他兩個疏伐處理間差異不顯著。2009 年 3 月樣本的多樣性在疏伐處理間差異顯著(條帶數：ANOVA, $p<0.05$ ；Shannon 指數：K-W test, $p<0.05$)，25%疏伐處理樣區的多樣性最高與 50%疏伐處理顯著高於控制組($p<0.05$)。2009 年 8 月與 2009 年 10 月樣本在疏伐處理間多樣性無顯著差異。疏伐後四年大雪山紅檜人工林的遺傳多樣性在三種疏伐處理間同樣無顯著差異。

七、疏伐後柳杉林土壤細菌群落之季節性變動

細菌群落除了受到疏伐之影響外，也發現群聚結構具有季節性改變。將柳杉林土壤樣本依照疏伐處理分開統計分析，排除疏伐效應後，可發現 MDS 圖形上樣本依照採樣季節分群(圖十六)，無論是控制組(Global $R=0.693, p<0.001$)、25% 疏伐(Global $R=0.653, p<0.001$)或是 50%疏伐處理(Global $R=0.735, p<0.001$)的樣本，不同季節的土

壤細菌群聚結構，皆有極顯著差異(表九、十、十一)，季節的兩兩成對比較都指出細菌群落在不同季節間都有極顯著差異($p<0.001$)。

八、疏伐對群聚層級生理譜之影響

人倫林道柳杉林兩種強度疏伐與控制組的微生物群聚層級生理譜有顯著差異，雖然 MDS 圖形上各處理的樣本分群並不明顯(圖十七、十八)，但相似度分析結果顯示疏伐後第一年 2008 年 10 月以及疏伐後第二年 2009 年 8 月樣本的群聚層級生理譜均達顯著差異(Global $R=0.065$, $p<0.01$ in Oct 2008; Global $R=0.069$, $p<0.01$ in Aug 2009)(表十二)。疏伐後第一年，控制組樣區的群聚層級生理譜與 50% 疏伐樣區差異顯著($p<0.01$)，25%與 50%疏伐處理間差異接近顯著($p=0.052$)，控制組樣區與 25%疏伐處理間差異並不明顯。疏伐後第二年，25%疏伐處理的群聚層級生理譜分別與 50%疏伐處理 ($p<0.01$) 以及控制組樣區($p<0.05$)有顯著差異(柳杉林土壤微生物群落層級生理譜見附錄四、五)。疏伐後第四年的大雪山紅檜人工林，微生物群聚層級生理譜顯示在不同疏伐處理間差異顯著(Global $R=0.342$, $p<0.01$)(表十三、圖十九)，控制組樣區分別與 35%疏伐($p<0.01$)和 45%疏伐處理($p<0.05$)有差異顯著，兩種強度疏伐處理則無顯著差異(紅檜林土壤微生物群落層級生理譜見附錄六)。

柳杉林與紅檜林兩種疏伐強度與控制組 AWCD 與 Shannon 功能多樣性指數有顯著差異。群聚層級生理譜的 AWCD 與 Shannon 多樣性指數在柳杉林疏伐後第一年(表十四)，疏伐處理間有顯著差異(AWCD: $p<0.01$, Shannon index: $p<0.05$)，以 50%疏伐顯著最高，其次是 25%疏伐處理，但 25%疏伐與控制組差異不顯著。疏伐後第二年平均吸光值與 Shannon 多樣性指數(表十四)，在疏伐處理間差異顯

著(AWCD : $p < 0.01$, Shannon index : $p < 0.05$)，AWCD 以 25%疏伐顯著最高，其次是 50%疏伐處理，但 50%疏伐與控制組差異不顯著，Shannon 多樣性指數以 25%疏伐顯著最高，控制組顯著最低。疏伐後第四年大雪山紅檜人工林，控制組的 AWCD 顯著高於 35%疏伐與 45%疏伐處理($p < 0.01$) (表十五)，其次為 35%疏伐，但兩種疏伐處理間無顯著差異；Shannon 多樣性指數也是控制組較高($p < 0.05$)，兩種疏伐處理間同樣無顯著差異(表十五)。

九、環境因子與碳源利用之關係

以變異數分析方法篩選疏伐後第一年疏伐處理吸光值較高的碳源，結果顯示僅 Tween 40、Adonitol、L-fructose 與 D-raffinose 吸光值差異極顯著($p < 0.001$)。將這四種碳源與環境因子(賴朝明教授，未發表數據)進行複迴歸分析(表十六)，Tween 40 吸光值與含水率達顯著負相關(coefficient=-0.888, $p < 0.05$)，和有機質(coefficient=0.875, $p = 0.063$)、生質碳(coefficient=0.417, $p = 0.079$)有正相關且接近顯著，雖與無機氮雖有負相關，但關係不顯著，複迴歸模式的 $R^2 = 0.665$ 與 Adjusted $R^2 = 0.474$ 。Adonitol 吸光值與含水率(coefficient=-1.618, $p < 0.01$)、無機氮(coefficient=-0.562, $p < 0.05$)有顯著負相關，與有機質(coefficient=1.177, $p < 0.05$)、總氮(coefficient=1.013, $p < 0.05$)有顯著正相關，與生質碳雖有正相關但並不顯著，複迴歸模式的 $R^2 = 0.881$ 與 Adjusted $R^2 = 0.781$ 。L-fructose 吸光值與生質氮有顯著正相關(coefficient=0.625, $p < 0.05$)，與無機氮呈顯著負相關(coefficient=-0.483, $p < 0.05$)，與總氮有正相關(coefficient=0.696, $p = 0.079$)土壤含水率有負相關(coefficient=-0.776, $p = 0.060$)，其關係接近顯著，雖與有機質呈正相關但並不顯著，複迴歸模式的 $R^2 = 0.892$ 與 Adjusted $R^2 = 0.802$ 。

D-raffinose 吸光值與有機質呈顯著正相關(coefficient=2.615, $p<0.05$)，與含水率(coefficient=-1.758, $p<0.05$)、無機氮(coefficient=-1.153, $p<0.05$)呈顯著負相關，雖與 pH、生質氮有正相關，與生質碳有負相關，但關係皆未達顯著，複迴歸模式的 $R^2=0.800$ ，Adjusted $R^2=0.560$ 。

依據吸光值的強弱將人倫林道的 Biolog 碳源數據進行分級，吸光值小於 0.2 歸類為幾乎不反應的碳源有 α -cyclodextrin、Acetic acid、Formic acid、 α -hydroxybutyric acid、 α -ketobutyric acid、 α -ketovaleric acid、Bromosuccinic acid、L-alaninamide、glycyl-L-aspartic acid、glycyl-L-glutamic acid 與 2,3-butanediol。吸光值小於 0.5 歸類為弱反應的碳源有，Dextrin、Glycogen、I-erythritol、 α -D-lactose、Lactulose、D-psicose、Succinic acid mono-methyl ester、Itaconic acid、Malonic acid、Propionic acid、Succinic acid、Succinamic acid、Glucuronamide、D-alanine、L-leucine、L-ornithine、L-threonine、D,L-camitine、Inosine、Uridine、Thymidine、Phenylethyl-amine、putrescine、2-amino ethanol、D,L- α -glycerol phosphate、 α -D-glucose-1-phosphate。這些碳源分別是 3 種聚合物(polymer)，佔全部聚合物種類的 60%；4 種碳水化合物(carbohydrate)，佔碳水化合物種類的 14%；7 種羧酸 Carboxylic acid 佔羧酸種類的 29%；7 種胺基酸(amino acid)，佔胺基酸種類的 35%；1 種酯類(ester)；3 種醯胺(amide)；3 種胺類(amine)。

討 論

一、塔塔加森林土壤微生物族群的季節性變化

本研究發現春、冬兩季塔塔加地區三種針葉林與高山芒草原的土壤菌數較高(圖五)。美國與西班牙相關研究中，西班牙溫帶松樹林與橡樹森林，春季與冬季的土壤微生物生質量高於夏季與秋季(Díaz-Raviña et al., 1995)，落磯山脈高山草原的微生物生質量與真菌菌絲豐量冬季高於夏季(Lipson and Schmidt, 2004)。比較三地之氣候，塔塔加位處亞熱帶氣候區，但因所處海拔高度介於 2,000-3,000 公尺，其年溫度變化介與 4.3~12.8°C，與西班牙的溫帶森林年溫度變化 6.7~13.8°C 相近(Díaz-Raviña et al., 1995)。落磯山脈草原氣溫變化介於-6~6°C 間，氣溫低於塔塔加，但海拔 3,500 m 與塔塔加相近。西班牙溫帶林的研究中(Díaz-Raviña et al., 1995)，作者認為冬季土壤潮濕，使真菌豐量增加，春季植物生長旺盛，提供大量根分泌物做為土壤微生物生長基質，造成春、冬兩季微生物生質量高(Díaz-Raviña et al., 1995)。塔塔加冬季氣溫低，有時甚至降雪，至春季氣溫上升，植物快速生長，土壤菌數增加，但塔塔加夏季降雨量高於冬季，氣候與西班牙研究地區不同，因此本研究冬季菌數高的原因，與西班牙研究(Díaz-Raviña et al., 1995)不同。

雖然塔塔加的溫度與植被與溫帶地區相近，降雨主要在夏季，雖累積雨量高但降雨不均，夏季高溫容易導致含水率降低，減少微生物豐量。過去有研究指出，土壤溫度提高 0.5°C，造成土壤含水率降低 22%，土壤細菌與真菌豐量減少超過 50% (Allison and Treseder, 2008)。

根據氣象資料，本研究夏季與秋季採樣前十天累計雨量分別只有 18 與 10 毫米，冬季與春季分別有 29 和 56 毫米(附錄七)，夏、秋兩

季採樣前少雨與高溫易造成土壤乾旱，減少微生物豐量，春、冬較均勻的降水有利土壤微生物生長。以前塔塔加地區研究調查指出夏季土壤微生物菌數略高於冬季，但季節影響不顯著(Yang et al., 2003; Yang et al., 2006; Cho et al., 2008)，與本研究結果不同，可能過去年分間的採樣前累積降雨量有所差異造成。

二、土壤細菌群聚結構受地表植被相之影響

本研究結果顯示，不同林相的土壤細菌群聚有顯著差異(表一、圖七)，例如柳杉林土壤細菌群聚結構顯著與其他林相和草原有顯著差異。過去研究中，比較不同作物的農田(Grayston et al., 1998; Han et al., 2007)或不同林相的森林(Myers et al., 2001)，例如大豆、玉米、葦葉羊茅 (*Festuca arundinacea*)草皮與中國薔薇 (*Rosa Chinensis*) (Han et al., 2007)；糖槭(Sugar maple, *Acer saccharum*)或橡樹(oak, *Quercus* spp.)為優勢的混合林(Myers et al., 2001)，土壤微生物的群聚組成與碳源利用多樣性有差異。本研究結果與上述兩研究結論相似，不同草本植物或各林相的森林生態系土壤，其微生物群聚與功能差異顯著。

植物地上部提供的枝葉與凋落物，是土壤有機質的主要來源，與植物根分泌物同為土壤微生物重要的營養來源，供給異營微生物所需碳源。土壤有機質與根分泌物的化學組成，因植物種類而有所不同(Quideau et al., 2001)。根分泌物與土壤微生物間有複雜的交互關係，有些微生物可利用根分泌物做為養分生長，有些微生物抑制甚至有毒害作用(Bais et al., 2006)，導致植物根圈分泌物對於土壤微生物群聚有篩選作用(Grayston et al., 1998)。因此，受到植物種類影響，不同林相或植被形成不同的土壤微生物群聚結構與功能多樣性(Myers et al.,

2001)。

三、土壤細菌群聚結構受地理位置、林相與擾動歷史之影響

本研究分析七種林相土壤細菌變性梯度膠體電泳指紋圖譜顯示，來自相同林相的樣本細菌群聚結構相似度高(表一、圖七)，大部分林相間的土壤細菌群聚組成顯著不同，只有三組例外，分別是塔塔加地區的二葉松與草原、雲杉與鐵杉以及大雪山的天然闊葉林與紅檜林的成對比較的差異不顯著。

雲杉林與鐵杉林位於塔塔加地區，天然闊葉林與紅檜林則位於大雪山，在地理位置相近，具有相同氣候與相近的土壤條件下，造成同個地理區的兩種林相，其土壤細菌群落組成相近。

二葉松林與高山芒草原土壤細菌群聚組成相似，但分別與同樣位處塔塔加地區的鐵杉林或雲杉林土壤細菌群落有所差異(表一、圖七)，可能是由於二葉松林與草原過去都受到林火擾動影響所致。塔塔加地區在 1993 年曾發生林火擾動(邱與潘，2005)，高山芒與二葉松是林火後的先驅物種(邱與潘，2005)。Smith 等人(2008)報導無論以變性梯度膠體電泳或是核糖體內間隔區分析法(ribosomal intergenic spacer analysis, RISA)，分析森林土壤微生物群聚組成，都指出經林火處理的不同樣區，其土壤細菌群聚結構相似，與未受林火擾動的森林土壤有顯著差異。

四、疏伐對於土壤微生物活性之影響

土壤環境中可利用碳、氮源是微生物生長的限制因子，因此植物的有機養分進入土壤，是微生物生長的重要營養來源。本研究，土壤細菌與真菌菌數在疏伐後半年內顯著增加(圖十)，應是由於疏伐作業產生大量營養豐富的新鮮枝葉進入土壤，與受疏伐樹木留下的大量死

亡根系成為土壤中異營微生物可利用的大量易分解有機養分，造成微生物活性上升。

Ohashi 等人(1999)發現柳杉林疏伐後第一、二年土壤呼吸量增加。土壤呼吸量包括植物根部呼吸量與土壤生物異營呼吸量(Chapin et al., 2002)，疏伐處理的樹木，根部呼吸中止，因此疏伐後土壤呼吸量的提高主要由土壤生物所貢獻。本研究的疏伐處理的柳杉林樣區中，土壤呼吸量增加(郭耀綸教授，未發表數據)，且可培養微生物菌數上升，複迴歸分析中，細菌菌數與土壤呼吸量有顯著正相關。足見疏伐後異營微生物生長，數量增加，增加的微生物呼吸量甚至超過因疏伐減少的樹木呼吸量，造成疏伐後土壤呼吸量的提升。

疏伐後經過的時間影響微生物生質量與活性的變化，調查疏伐超過四年以上的森林(Grady and Hat, 2006; Hannam et al., 2006; Maassen et al., 2006)，疏伐對於土壤微生物生質量與活性的影響不顯著，只有調查疏伐後第一年的山毛櫸森林(Grayston and Rennenberg, 2006)方偵測到土壤微生物生質量增加。本研究在疏伐後半年內調查，發現疏伐處理柳杉林的土壤細菌與真菌菌數顯著增加(圖十)，可知疏伐對於土壤微生物活性指標起伏在數個月內回復，必須在疏伐擾動後隨即調查，才可被偵測到。

根據本研究調查，疏伐對於微生物族群量的增加僅維持半年，與疏伐產生新鮮枝葉殘體的營養在短時間內分解有關。新鮮綠葉營養成分高(Girisha et al., 2003)，在野外易被微生物分解利用，因此土壤菌數短暫增加，其後，使用所剩不易分解利用的養分的土壤微生物代謝較慢，生長也慢，因此疏伐半年後，土壤養分與微生物生長狀況回到一般狀況，與控制組不再有顯著的差異。

五、疏伐對於土壤細菌群聚結構之影響

變性梯度膠體電泳的分析結果指出，土壤細菌群聚結構顯著受疏伐影響(表五、圖十三)，推論與疏伐後所遺留的枝葉提供的地表營養，使富養性(copiotroph)的細菌族群增加有關。當疏伐產生的新鮮柳杉枝葉進入土壤，提高土壤養分，使富養性細菌族群增加(Fierer et al., 2007)，改變土壤的細菌群聚結構。柳杉林疏伐一年半後，處理間變性梯度膠體電泳方法呈現的優勢土壤細菌族群，無顯著差異(表五、圖十三)，可能因為疏伐大量增加的養分耗盡，富養性細菌族群優勢降低，組成回復以原生寡養性(oligotrophic)細菌為主的細菌群聚，造成疏伐處理與控制組間無顯著差異。

疏伐影響土壤微生物族群量約有半年(圖十)，影響土壤細菌群聚結構時間更長(圖十三)，柳杉林疏伐樣區疏伐半年後，土壤菌數回復到與控制組相近，但在疏伐處理與控制組間細菌群聚結構差異依然顯著，可見土壤菌數呈現的微生物生質量雖回復，但是疏伐對於土壤細菌群聚結構的影響並未消失。

前人研究指出疏伐與皆伐對微生物群聚結構的影響能持續數年之久。松樹林疏伐五年後(Maassen et al., 2006)或 Scots pine 皆伐三年後(Bååth et al., 1995)，土壤微生物群聚結構改變顯著。

疏伐可視為森林生態系的擾動。擾動後，微生物群聚結構發生改變，經過一段時間後可能回復到原本狀態，稱為 resilience (Allison and Martiny, 2008)；或者群聚結構與原本狀態分歧、不回復。疏伐五年後的松樹林(Maassen et al., 2006)與皆伐三年後 scots pine (Bååth et al., 1995) 的土壤微生物群聚組成有顯著差異，其群聚結構可能需要經過更長時間才回復或已然不同。

也有研究指出疏伐與皆伐對於土壤微生物群聚結構影響不顯

著。白雲杉(white spruce)林、顫楊林(trembling aspen)與針闊葉混合林經皆伐與兩種強度疏伐 4-5 年後，微生物群聚結構沒有顯著影響(Hannam et al., 2006)。可能該林相的土壤微生物群聚受到擾動後改變，在調查前已回復，而未測得變化。

回顧疏伐對於微生物影響的相關文獻，調查大都是在伐木後數年進行，沒有持續監測土壤微生物的群聚結構的報告，因此對疏伐擾動後，微生物群聚結構的動態變化並不清楚。本研究自疏伐後連續一年半，以變性梯度膠體電泳持續監測疏伐後柳杉林土壤細菌群聚結構變化，發現疏伐後隨即的調查發現群聚結構有顯著差異，其差異在疏伐一年半後消失，細菌群聚結構回復與控制組無顯著差異(表五)。

不同林相土壤微生物群聚結構受疏伐擾動後，回復的時間不同，與微生物群聚特性及擾動強度有關。不同林相土壤微生物群聚結構有所差異(Myers et al., 2001)，不同群聚結構面臨相同疏伐擾動時，由於菌種特性(Onofri et al., 2007)以及菌種間交互作用(林，2003)，因此微生物群聚對於擾動的反應時間不同。擾動強度高時，群聚結構改變程度大，需要更長的時間進行回復(Chapin et al., 2002；Allison and Martiny, 2008)。

皆伐的擾動強度高於疏伐，比較兩者對土壤微生物群聚造成的影響。不同研究中疏伐對於群聚結構影響有所不同，微生物群聚結構可能未受影響(Hannam et al., 2006)，群聚結構可能改變(Maassen et al., 2006)，或者在同座森林的南、北兩個樣區獲得不同結果(Hannam et al., 2006)。本研究柳杉林疏伐後，變性梯度膠體電泳呈現的微生物群聚組成改變，但在疏伐後第二年可回復。

多數研究森林皆伐的文獻指出皆伐後微生物群聚結構改變((Bååth et al., 1995；Chatterjee et al., 2008；Smith et al., 2008)，只有一

篇報導，皆伐後森林微生物磷脂脂肪酸組成與未皆伐森林的差異不顯著(Hannam et al., 2006)。可見擾動程度較強的皆伐經營，對於土壤微生物群聚結構的影響，較疏伐影響更為深遠，在大多數皆伐文獻中，皆伐顯著改變群聚結構((Bååth et al., 1995 ; Chatterjee et al., 2008 ; Smith et al., 2008)達數十年(Chatterjee et al., 2008)。

疏伐的擾動程度較皆伐低，且研究不同的林相，發現疏伐微生物群聚結構影響不同。生態系過程(ecosystem process)，例如腐植質分解速率與土壤酵素活性等，與微生物群聚結構相關(Carney and Matson, 2005 ; Waldrop et al., 2000)，擾動改變群聚結構，可能直接影響森林生態系過程(Allison and Martiny 2008)，從微生物生態的觀點上，林業經營宜採疏伐管理，避免皆伐，降低擾動對於森林生態系帶來之衝擊。

本研究中使用兩個方法分析土壤細菌群聚結構，以群落層級生理譜分析細菌的碳源利用多樣性以及變性梯度膠體電泳分析細菌群聚的遺傳多樣性，結果指出兩個方法都能有效偵測到疏伐對於土壤細菌群聚結構之影響，但功能與遺傳結構的結果未必一致，例如：柳杉林疏伐後第二年，疏伐處理與控制組間的碳源利用有顯著差異(表十二)，但變性梯度膠體電泳分析中細菌群聚組成差異不顯著(表五)。

變性梯度膠體電泳反映數量豐富的菌種的群聚變化(Kirk et al., 2004)。群落層級生理譜則呈現較多種類可培養的微生物類群的整體功能，比變性梯度膠體電泳更能反映低豐量的微生物類群(Hadwin et al., 2005)。同時使用這兩種方法，能呈現柳杉林疏伐對於各類細菌族群的影響，群落層級生理譜與變性梯度膠體電泳都指出，人倫林道柳杉林疏伐後第一年，土壤細菌群聚結構顯著受疏伐影響；但第二年，疏伐對變性梯度膠體電泳指紋圖譜呈現的優勢細菌群聚結構影響不顯著，群落層級生理譜結果則指出包含較多低豐量物種在內的整體土

壤微生物功能未回復，受到疏伐影響更為長遠，至少維持兩年。

六、疏伐樣區植被多樣性對於碳源利用多樣性之影響

以群落層級生理譜計算出的功能多樣性指數(Shannon index)與 average well color development (AWCD)顯著受到疏伐影響，但不同林相的變化不同。柳杉林疏伐樣區功能多樣性指數與 AWCD 高於控制組(表十四)，紅檜林則是控制組高於疏伐處理(表十五)。差別可能肇因於林下植被多樣性和演替更新有關。

大雪山紅檜種植密度高，即使中度疏伐樣區的樹木密度(1000 棵/公頃)高於柳杉林控制組樣區(平均 922 棵/公頃)，因此紅檜林疏伐樣區林下植被的回復與生長狀況不如柳杉林茂密，紅檜林未疏伐樣區有 41 種植物，中度疏伐樣區有 33 種，重度疏伐樣區僅 27 種(林等，2007)。控制組樣區植物多樣性高於疏伐林，功能多樣性也顯著高於疏伐樣區。柳杉人工林疏伐後，植物種類雖因樣區變異過大在三種處理間無明顯差異，陽性樹種增加，強度疏伐樣區平均增加 12 種植物，中度疏伐增加 4 種，未疏伐樣區僅增加 1 種，且林下植被快速恢復，中度與重度疏伐處理的植被覆蓋度與控制組相比增加約十倍(孫義方，個人通訊)，土壤微生物功能多樣性也增加。由以上兩個例子可以看出土壤微生物功能多樣性應與植被多樣性與植被演替有關。過去研究指出 Biolog 碳源利用多樣性指數(Shannon index) 與 AWCD 和地表植物多樣性有正相關(He et al., 2008; Liu et al., 2008)。

過去研究指出根分泌物成分因植物種類而異(Hertenberger et al., 2002)，根分泌物對於土壤微生物群聚結構有篩選作用(Grayston et al., 1998)，導致不同種植物(Grayston et al., 1998 ; Han et al., 2007)或是不同森林(Myers et al., 2001)的土壤微生物群聚結構有所不同。因此植物

多樣性高，根分泌物的種類隨之增加，提高土壤微生物群聚對碳源利用的多樣性(He et al., 2008 ; Liu et al., 2008)。紅檜林未疏伐樣區林下植物多樣性高，以及疏伐柳杉林新增樹種與林下植被覆蓋率回復有助於提高根分泌物種類，提高土壤微生物功能多樣性。本研究柳杉林疏伐樣區地表植被回復、陽性樹種增加，疏伐樣區功能多樣性與 AWCD 顯著高於控制組(表十四)，紅檜林未疏伐樣區內的植物多樣性高於兩種疏伐處理，因此功能多樣性與 AWCD 高(表十五)。

七、微生物族群與環境因子間關係

利用複迴歸分析方法找出與土壤微生物族群變化有相關之環境因子，結果顯示細菌、真菌與纖維素分解菌菌數，分別與有機質含量、有效磷與水溶性磷大都有顯著正相關(表四)。有機質是土壤微生物可利用之碳源，與磷同為生長之限制因子，因此菌數與含量有正相關。其中真菌與纖維素分解菌菌數分別和有機質含量相關性達極顯著，可能表示土壤真菌與纖維素分解菌在柳杉林中擔任有機質的主要分解者。

細菌、真菌與纖維素分解菌族群和含水率(water content)、總氮(total N)、無機氮(inorganic N)、硫酸鹽(sulfate)、 β -胺基葡萄糖苷酶(β -glucosaminidase)活性、芳香基硫酸酯酶(arylsulfatase)活性、去氫酶(dehydrogenase)活性的相關性不顯著(表四)。

複迴歸結果顯示柳杉林土壤微生物生質碳與土壤細菌數呈顯著負相關(表四)，但不同研究中微生物生質碳與細菌數的關係也有所不同。塔塔加高山芒草原研究中，土壤細菌菌數與微生物生質碳間正相關性低，相關係數僅 0.27(Cho et al., 2008)。Lipson 與 Schmidt (2004) 在高山草原的研究指出，微生物生質碳與土壤細菌數有負相關。

土壤微生物生質碳使用燻蒸萃取法測量(鍾，2009)，使用氯仿溶解細胞膜，殺死活細胞，將細胞內成分釋出，進行萃取與定量(Witt et al., 2000)。氯仿燻蒸法測量所有微生物，包括原核與真核生物的生質碳，細菌貢獻其中一部分。平板計數法測到的細菌數代表的是可培養細菌的生質量，與微生物生質量碳之間的關係可能不一定具有正相關趨勢。

此外，有證據指出氯仿燻蒸無法殺死所有真菌或是細菌孢子(Bonkowski and Roy, 2005)，因此產生內孢子在土壤中休眠的細菌菌種，其生質量無法完全以氯仿燻蒸法測量。此外，某些這類菌種在平板培養基上生長快速，例如芽孢桿菌(*Bacillus* spp.)，使用平板培養法分析土壤樣本常獲得這類的菌種(林，1993)，使用這兩種方法可能反映不同細菌族群的生質量，因此在不同研究中兩者間關係可能迥異。欲釐清土壤細菌數與微生物生質碳之間的關係，可能還需要更多數據的支持以及更深入的研究。

八、放線菌菌數與土壤含水率相關

柳杉林土壤放線菌菌數未受到疏伐處理的影響，但在不同坡向樣區其數量有差異，東向坡放線菌數高於北向坡(圖十一)，可能與土壤含水率有關，2008年北向坡樣區土壤含水率為 $38\pm 10\%$ ，東向坡樣區為 $32\pm 8\%$ (鍾，2009)，放線菌較細菌耐旱，在乾燥環境下比細菌更有競爭力(Alexander, 1977)，因此東向坡放線菌數較高。土壤細菌、真菌、纖維素分解菌、固氮菌與溶磷菌則不受坡向影響，菌數在東向坡與北向坡無明顯差異。

九、比較皆伐與疏伐對於土壤微生物之影響

皆伐的擾動程度相較於疏伐更為劇烈，過去研究中發現皆伐對微

生物生質量具有負面影響。針闊葉混合林皆伐後一年的調查結果顯示，土壤微生物生質量下降 18% (Smith et al., 2008)。挪威雲杉(*Picea abies*)森林皆伐後三年，土壤真菌生質量降低 (Pietikäinen and Fritze, 1995)。扭葉松(*Pinus contorta*)林皆伐後 45 年，土壤微生物 PLFA 總量顯著降低 (Chatterjee et al., 2008)。微生物生質量的下降可能與皆伐後無林冠遮蔽，土壤沖蝕作用(soil erosion) 增加，大雨將微生物伴隨土壤與植物殘體一起沖刷、流失 (Barbhuiya et al., 2004, 2008)。證據指出皆伐與未伐木的森林相比，土壤流失量增加八倍 (Sayok et al., 1993)。

疏伐對於微生物生質量之影響不如皆伐劇烈，森林疏伐後土壤微生物生質量維持不變 (Grady and Hat, 2006；Hannam et al., 2006；Maassen et al., 2006)，或是提高 (Grayston and Rennenberg, 2006)。疏伐較皆伐對於土壤微生物影響較小的原因有一、柳杉林疏伐留存的樹木提供林冠遮蔽，部分降雨受到林冠結構攔截，減少降雨對柳杉林土壤沖蝕，研究指出鬱閉森林的攔截水(interception)，可達降水量的 10~50% (Chapin et al., 2002)；二、疏伐留存樹木的樹根能穩固土壤結構，具有緩衝基質流失的效應；三、留存樹木持續提供根分泌物與有機質進入土壤，供給土壤碳源，因此柳杉林疏伐樣區土壤菌數在調查期間並未下降。

在針闊葉混合林的皆伐研究 (Smith et al., 2008)，伐木處理外同時移除所有地表植物凋落物，移除凋落物使微生物的生長基質減少，也增加土壤裸露的面積，加速沖蝕作用，導致土壤微生物生質量減少 18%。本研究將疏伐樣區部分的柳杉木材移出，大部分枝葉留在樣區內自然分解，這些枝葉殘體覆蓋地表對於土壤有保護功能，減少沖蝕作用(France et al., 1998)，並可提供微生物生長基質，也是疏伐樣區

土壤菌數未下降的原因之一。

十、土壤微生物分析方法之優缺點比較

平板計數法屬於仰賴培養(culture dependent)以分析微生物族群或群聚的方法，由於操作簡單，能快速、有效地反映異營性、可培養的優勢菌種的生質量變化 (Kirk et al., 2004)，並獲得菌株，本研究利用平板計數法發現疏伐短暫提高土壤細菌與真菌菌數。

然而平板培養基上計數到的微生物，常是生長快速的菌種，或是大量產孢的真菌(Kirk et al., 2004)。雖估計約 99%微生物無法被培養出來(Torsvik and Øvreås 2002；Kirk et al., 2004)，但 1%族群的變化，仍可以做為整體群聚變化的指標。這是以平板計數法測定微生物數量、分析群落結構與生態的限制。

群聚層級生理譜反映可培養微生物群聚的整體生理表現，除了代表微生物群聚結構外，也能代表微生物群聚對於碳源利用的功能多樣性。這個方法操作簡便，能快速獲得微生物群聚大量生理特徵的資訊 (Zak et al., 1994；Kirk et al., 2004)。但無法模擬微生物在野外環境的生理表現，只能反映可培養微生物在實驗室狀態下，碳源利用多樣性的潛能(Garland and Mills, 1991)。

變性梯度膠體電泳屬於非培養(culture independent)的微生物分析方法，避免上述方法只分析可培養微生物的偏差。但應用 PCR 的核酸分析方法，都難以避免 PCR 的偏差(Wintzingerode et al., 1997; Kirk et al., 2004)。PCR 反應利用的引子與模板 DNA 的同源性(homology)篩選所偵測菌群(Wintzingerode et al., 1997；Kirk et al., 2004)。此外，細菌有許多 16S rRNA 基因拷貝數 (multiple copies)，在基因拷貝間，序列可能有少許差異，被變性梯度膠體電泳分析辨識出來，以致一種

細菌呈現多條條帶(Kirk et al., 2004)。也發現在膠體相同位置的條帶包含兩種以上的序列的核酸，兩種狀況分別造成高估或低估多樣性。

本研究雖然在疏伐處理實驗組與控制組間的群落層級生理譜差異顯著，但處理內樣本間具有高度變異。Ibekwe 等人(2001) 以 Biolog 方法測定相同土壤樣本內重複取樣的樣本，所獲得土壤微生物的群落層級生理譜，有樣本內取樣的變異，變異性大；相較於 Biolog 方法，變性梯度膠體電泳結果變異小、再現性佳。可能與兩方法反映出的微生物類群及不均勻度差異所致，Biolog 方法獲得的群落層級生理譜較能反映多種類包括低豐量的物種微生物類群(Hadwin et al., 2005)，罕見物種的出現與否可決定群落層級生理譜的變異大小；變性梯度膠體電泳則反映出優勢細菌群聚變化，不受罕見物種影響(Kirk et al., 2004)，故其變異較小。

十一、貢獻

本研究報告疏伐對土壤微生物的立即影響，以及監測疏伐後微生物群聚結構與功能變動，大規模調查與比較台灣六種林相與草原的土壤微生物群聚結構，首次報導台灣人工林的土壤微生物相，是台灣第一篇報導森林經營管理對於土壤微生物影響的研究。

結 論

林相對於細菌、放線菌、真菌、纖維素分解菌、固氮菌與溶磷菌等六類土壤微生物族群量影響顯著，且受季節影響，有些季節，土壤菌數在不同林相間差異顯著。四季調查中，柳杉林的土壤菌數較塔塔加三種針葉林與草原穩定；塔塔加三種林相與草原土壤菌數則有明顯季節變化，春、冬兩季菌數高於夏、秋。以變性梯度膠體電泳分析土壤細菌群落結構，結果指出群聚結構顯著受林相與地點影響。柳杉與紅檜林的土壤微生物群落層級生理譜有顯著差異。

柳杉人工林疏伐後半年內細菌與真菌菌數顯著增加，纖維素分解菌菌數在疏伐後第一年內增加但不顯著。土壤菌數增加與疏伐產生大量枝葉，進入土壤，增加土壤養分有關。複迴歸分析結果指出細菌、真菌與纖維素分解菌菌數變化和土壤有效磷、水溶性磷與有機質含量相關。土棲放線菌菌數不受疏伐影響，但受坡相顯著影響，東向坡樣區放線菌菌數高於北向坡。固氮菌與溶磷菌菌數則不受疏伐或坡相影響。

柳杉林與紅檜林的土壤細菌群聚結構以變性梯度膠體電泳分析的結果，顯示疏伐顯著改變細菌群聚結構，柳杉林疏伐一年半後細菌群聚結構回復，疏伐後第四年紅檜林仍可偵測到群聚結構的改變。

柳杉林疏伐後第一、二年與紅檜林疏伐後的第四年，其土壤微生物群落層級生理譜顯著受疏伐影響。疏伐處理顯著增加柳杉林土壤的碳源利用多樣性以及 average well color development，但在紅檜林疏伐樣區則降低。柳杉林土壤對於 Tween 40、果糖、核糖醇、與棉子糖等碳源的利用反應受疏伐影響顯著提高，這些碳源與土壤有機質含量大都有正相關，與無機氮含量和含水率則是負相關。有機質含量、無機氮含量和含水率是主要影響這些碳源反應的環境因子。

林業經營將鬱閉林疏伐，以保持林分生長活力，促進林木生長與森林生態系健康。疏伐對於森林生態環境與土壤性質有顯著影響，但對於擔任主要分解者與參與元素循環的土壤微生物所知極有限。本研究發現鬱閉柳杉林經疏伐後，土壤異營微生物增加、對碳源利用的功能多樣性與功能強度顯著提高，加速森林生態系的營養循環。在監測過程中發現樣區內土壤菌數增加在半年內回復，疏伐後優勢土壤微生物群聚結構改變，一年半後回復，但土壤微生物功能多樣性仍與未疏伐處理有顯著差異。

參 考 文 獻

1. 王國瑞。1963。台灣林業史。金氏圖書有限公司，台灣。
2. 林良平。1993。土壤微生物學。南山堂出版社，台灣。
3. 林良恭、關永才、卓逸民、Cara Lin Bridgman、汪碧涵、楊宗愈。2007。疏伐林木對生物多樣性影響之監測與評估 (三)。行政院農業委員會林務局委託研究計畫系列 96-03-5-05。
4. 邱祈榮、潘麗慧。2005。塔塔加地區火災跡地復育之監測。2005年台灣地理資訊學會年會暨學術研討會論文集。
5. 莊俊逸、王亞男、王明光、吳星輝。2005。塔塔加高山地區鐵杉、玉山箭竹及草原表土之物理與化學性質比較。台大實驗林研究報告，18：35-40。
6. 張瀨文。1998。以 Booster PC 偵測薑田土壤中的病原菌 *Pythium myriotylum* Drechsler。東吳大學微生物學系學士論文，台北。
7. 鍾孟好。2009。人工林疏伐強度對土壤酵素活性及土壤功能多樣性之影響。台灣大學生物資源暨農學院農業化學系碩士論文，台北。
8. 劉業經、林文鎮、林維治。1979。台灣經濟樹木育林學。國立中興大學，台灣。
9. 劉業經、呂福原、歐辰雄。1982。臺灣樹木誌。國立中興大學農

學院出版委員會，台灣。

10. 顏慧、蔡祖聰、鍾文輝。2006。磷脂脂肪酸分析方法及其在土壤微生物多樣性研究中的應用。土壤學報，43：851–859。
11. 羅紹麟、馮豐隆。1985。林相變更之柳杉造林地的林分構造與收穫。興大實驗林研究報告，6：73–91。
12. Alexander M (1977) Introduction to soil microbiology. 2nd edition. John Wiley & Sons., Canada
13. Allison SD, Martiny JBH (2008) Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. Proc Natl Acad Sci USA 105:11512–11519
14. Allison SD, Treseder KK (2008) Warming and drying suppress microbial activity and carbon cycling in boreal forest soils. Glob Change Biol 14:2898–2909
15. Anderson DA, Holland II (1982) Forest and forestry. 3rd edn. The Interstate Printers & Publishers, Inc., USA
16. Anderson IC, Cairney JWG (2004) Diversity and ecology of soil fungi communities: increased understanding through the application of molecular techniques. Environ Microbiol 6:769–779
17. Artz RRE, Anderson IC, Chapman SJ, Hagn A, Schloter M, Potts JM, Campbell CD (2007) Changes in fungal community composition in

response to vegetational succession during the natural regeneration of cutover peatlands. *Microb Ecol* 54:508–522

18. Arunachalam A, Maithani K, Pandey HN, Tripathi RS (1996) The impact of disturbance on detrital dynamics and soil microbial biomass of a *Pinus kesiya* forest in north-east India. *Forest Ecol Manag* 88:273–282
19. Bååth E, Frostegård Å, Pennanen T, Fritze H (1995) Microbial community structure and pH response in relation to soil organic matter quality in wood-ash fertilized, clear-cut or burned coniferous forest soils. *Soil Biol Biochem* 27:229–240
20. Bais HP, Weir TL, Perry LG, Gilroy S, Vivanco JM (2006) The role of root exudates in rhizosphere interactions with plant and other organisms. *Annu Rev Plant Biol* 57:233–266
21. Barbhuiya AR, Arunachalam A, Pandey HN, Khan ML, Arunachalam K, Khan ML, Nath PC (2004) Dynamics of soil microbial biomass C, N and P in disturbed and undisturbed stands of a tropical wet-evergreen forest. *Eur J Soil Biol* 40:113–121
22. Barbhuiya AR, Arunachalam A, Pandey HN, Khan ML, Arunachalam K (2008) Effects of disturbance on fine roots and soil microbial biomass C, N and P in a tropical rainforest ecosystem of Northeast India. *Cur Sci* 94:572–574
23. Bonkowski M, Roy J (2005) Soil microbial diversity and soil functioning affect competition among grasses in experimental

microcosms. *Oecologia* 143:232–240

24. Carney KM, Matson PA (2005) Plant communities, soil microorganisms, and soil carbon cycling: Does altering the world belowground matter to ecosystem functioning? *Ecosystems* 8:928–940
25. Chapin FS (1980) The mineral nutrient of wild plant. *Annu Rev Ecol Syst* 11:233–260
26. Chapin III FS, Matson PA, Mooney HA (2002) Principles of terrestrial ecosystem ecology. Chapin MC (ed) Springer Science+Business Media, New York, pp 79, 143, 152–155, 282
27. Chatterjee A, Vance GF, Pendall E, Stahl PD (2008) Timber harvesting alters soil carbon mineralization and microbial community structure in coniferous forests. *Soil Biol Biochem* 40:1901–1907
28. Cho ST, Tsai SH, Ravindran A, Selvam A, Yang SS (2008) Seasonal variation of microbial populations and biomass in *Tatachia* grassland soils of Taiwan. *Environ Geochem Health* 30:255–272
29. Chuang CC, Kuo YL, Chao CC, Chao WL (2007). Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by *Aspergillus niger*. *Biol Fert Soils* 43:575–584
30. Clark KR, Warwick RM (2001) Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. 2nd edn. PRIMER–E, Plymouth, UK

31. Cookson WR, O'Donnell AJ, Grant CD, Grierson PE, Murphy DV (2008) Impact of ecosystem management on microbial community level physiological profiles of postmining forest rehabilitation. *Microb Ecol* 55:321–332
32. DeBellis T, Kernaghan G, Bradley R, Widden P (2006) Relationships between stand composition and ectomycorrhizal community structure in boreal mixed-wood forests. *Micro Ecol* 52:114–126
33. Díaz-Raviña M, Acea MJ, Carballas T (1995) Seasonal changes in microbial biomass and nutrient flush in forest soils. *Bio Fertil Soils* 19:220–226
34. Drenovsky RE, Elliott GN, Graham KJ, Scow KM (2004) Comparison of phospholipid fatty (PLFA) and total soil fatty acid methyl esters (TSFAME) for characterizing soil microbial communities. *Soil Biol Biochem* 36:1793–1800
35. Enwall K, Hallin S (2009) Comparison of T-RFLP and DGGE techniques to access denitrifier community composition in soil. *Lett Appl Microbiol* 48:145–148
36. Ferreira MC, Andrade D S, Chueire LMO, Takemura SM, Hungria M (2000) Tillage method and crop rotation effects on the population sizes and diversity of bradyrhizobia nodulating soybean. *Soil Biol Biochem* 32:627–637
37. Fierer N, Bardford MA, Jackson RB (2007) Toward an ecological

classification of soil bacteria. Ecology 88:1354–1364

38. France R, Peters R, McCabe L (1998) Spatial relationships among boreal riparian trees, litterfall and soil erosion potential with reference to buffer strip management and coldwater fisheries. Ann Bot Fennici 35:1–9
39. Gardner J (2001) Rehabilitating mines to meet land use objectives: bauxite mining in the jarrah forest of Western Australia. Unasylva 52:3–8
40. Garland JL, Mills AL (1991) Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level-sole-carbon-source-utilization. Appl Environ Microbiol 57:2351–2359
41. Gai C, Boerner REJ (2007) Effects of ecological restoration on microbial activity, microbial functional diversity, and soil organic matter in mixed-oak forests of southern Ohio, USA. Appl Soil Ecol 35:281–290
42. Girisha GK, Condrón LM, Clinton PW, Davis MR (2003) Decomposition and nutrient dynamics of green and freshly fallen radiata pine (*Pinus radiata*) needles. For Ecol Manag 179:169–181
43. Grady KC, Hat S (2006) Influence of thinning, prescribed burning, and wildfire on soil processes and properties in southwestern ponderosa pine forests: A retrospective study. Forest Ecol Manag 234:123–135

44. Grant CD, Koch JM (1997) Ecological aspects of soil seed-banks in relation to bauxite mining. II. Twelve year old rehabilitated mines. *Aust J Ecol* 22:177–184
45. Grant CD, Loneragan WA (1999) The effects of burning on the understory composition of 11–13 year-old rehabilitated bauxite mines in Western Australia - Vegetation characteristics. *Plant Ecol* 145:291–305
46. Grant, CD (2003) Post-burn vegetation development of rehabilitated bauxite mines in Western Australia. *Forest Ecol Manag* 186:147–157
47. Grant CD, Norman MA, Smith MA (2007) Fire and silvicultural management of restored bauxite mines in Western Australia. *Restor Ecol* 15:127–136
48. Grayston SJ, Wang S, Campbell CD, Edwards AC (1998) Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biol Biochem* 30:369–378
49. Grayston SJ, Rennenberg H (2006) Assessing effects of forest management on microbial community structure in a central European beech forest. *Can J For Res* 36:2595–2604
50. Hadwin AKM, Del Rio LF, Pinto L, Painter M, Routledge R, Moore MM (2005) Microbial communities in wetlands of the Athabasca oil sands: genetic and metabolic characterization. *FEMS Microbiol Ecol* 55:68–78

51. Haichar FZ, Marol C, Berge O, Rangel-Castro JI, Prosser JI, Balesdent J, Heulin T, Achouak W (2008) Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. *ISME J* 2:1221–1230
52. Han XM, Wang RQ, Liu J, Wang MC, Zhou J, Guo WH (2007) Effects of vegetation type on soil microbial community structure and catabolic diversity assessed by polyphasic methods in North China. *J Environ Sci* 19:1228–1234
53. Hannam KD, Quideau SA, Kishchuk BE (2006) Forest floor microbial communities in relation to stand composition and timber harvesting in northern Alberta. *Soil Biol Biochem* 38:2565–2575
54. Hassett JE, Zak DR (2005) Aspen harvest intensity decreases microbial biomass, extracellular enzyme activity, and soil nitrogen cycling. *Soil Sci Soc Am J* 69:227–235
55. He YX, Wang KL, Zhang W, Chen ZH, Zhu YG, Chen HS (2008) Positive correlation between soil bacterial metabolic and plant species diversity and bacterial and fungal diversity in a vegetation succession on Karst. *Plant soil* 307:123–134
56. Hertenberger G, Zampach P, Bachmann G (2002) Plant species affect the concentration of free sugars and free amino acids in different types of soil. *J Plant Nutr Soil Sci* 165:557–565
57. Hooper DU, Vitousek PM (1997) The effects of plant composition

- and diversity on ecosystem processes. *Science* 277:1302–1305
58. Houston APC, Visser S, Lautenschlager RA (1998) Microbial processes and fungal community structure in soils from clear-cut and unharvest areas of two mixedwood forests. *Can J Bot* 76:630–640
 59. Ibekwe AM, Papiernik SK, Gan J, Yates SR, Yang CH, Crowley DE (2001) Impact of fumigants on soil microbial communities. *Appl Environ Microbiol* 67:3245–3257
 60. Janzen HH (2006) The soil carbon dilemma: shall we hoard or use it? *Soil Biol Biochem* 38:419–424
 61. Johnson LF, Curl EA (1972) *Methods for research on the ecology of soil-borne plant pathogens*. Burgess Publishing Company, Minneapolis, USA, pp 199
 62. Johnson D, Booth RE, Whiteley AS, Bailey MJ, Read DJ, Grime JP, Leake JR (2003) Plant community composition affects the biomass, activity and diversity of microorganisms in limestone grassland soil. *Eur J Soil Sci* 54:671–677
 63. Kirk JL, Beaudette LA, Hart M, Moutoglis P, Klironomos JN, Lee H, Trevors JT (2004) *Methods of studying soil microbial diversity*. *J Microbiol Meth* 58:169–188
 64. Kourtev PS, Ehrenfeld JG, Haggblom M (2002) Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology* 83:3152–3166

65. Kourtev PS, Ehrenfeld JG, Häggblom M (2003) Experimental analysis of the effect of exotic and native plant species on the structures and function of soil microbial communities. *Soil Biol Biochem* 35:895–905.
66. Li H, Zhang Y, Li DS, Xu H, Chen GX, Zhang CG (2009) Comparisons of different hypervariable regions of *rrs* genes of fingerprinting of microbial communities in paddy soils. *Soil Biol Biochem* 41:954–968
67. Lin YT, Huang YJ, Tang SL, Whitman WB, Coleman DC, Chiu CY (2010a) Bacterial community diversity in undisturbed perhumid montane forest soil in Taiwan. *Microb Ecol* 59:369–378
68. Lin YT, Lin CP, Chaw SM, Whitman WB, Coleman DC, Chiu CY (2010b) Bacterial community of very wet and acidic subalpine forest and fire-induced grassland soils. *Plant Soil* 332:417–427
69. Lipson DA, Schmidt SK (2004) Seasonal changes in an alpine soil bacterial community in the Colorado Rocky Mountains. *Appl Environ Microbiol* 70:2867–2879
70. Liu Z, Liu G, Fu B, Zheng X (2008) Relationship between plant species diversity and soil microbial functional diversity along a longitudinal gradient in temperate grasslands of Hulunbeir, Inner Mongolia, China. *Ecol Res* 23:511–518
71. Maassen S, Fritze H, Wirth S (2006) Response of soil microbial

- biomass, activities, and community structure at a pine stand in northeastern Germany 5 years after thinning. *Can J For Res* 36:1427–1434
72. Mackay SJ (1977) Improved enumeration of *Streptomyces* spp. on a starch casein salt medium. *Appl Environ Microbiol* 33:227–230
73. Malosso E, English L, Hopkins DW, O’Donnell AG (2005) Community level physiological profile response to plant residue additions in Antarctic soils. *Biol Fertil Soils* 42:60–65
74. Mikola J, Barker GM, Wardle DA (2000) Linking aboveground and below-ground effects in autotrophic microcosms: effects of shading and defoliation on plant and soil properties. *Oikos* 89:577–587
75. Morris SJ, Boerner REJ (1998) Interactive influences of silvicultural management and soil chemistry upon microbial abundance and nitrogen mineralization. *Forest Ecol Manag* 103:129–139
76. Myers RM, Fischer SG, Lerman LS, Maniatis T (1985) Nearly all single base substitutions in DNA fragments joined to a GC-clamp can be detected by denaturing gradient gel electrophoresis. *Nucleic Acids Res* 13:3131–3145
77. Myers RT, Zak DR, White DC, Peacock A (2001) Landscape-level patterns of microbial community composition and substrate use in upland forest ecosystems. *Soil Sci Soc Am J* 65:359–367
78. Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini MT, Landi L, Pietramellara G,

- Renella G (2003) Microbial diversity and soil functions. *Eur J Soil Sci* 54:655–670
79. Nüsslein K, Tiedje JM (1999) Soil bacterial community shift correlated with change from forest to pasture vegetation in a tropical soil. *Appl Environ Microbiol* 65:3622–3626
80. O’Callaghan M, Lorenz N, Gerard EM (2006) Characterization of phylloplane and rhizosphere microbial populations using PCR and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). In: *Molecular Approaches to Soils, Rhizosphere and Plant Microorganism Analysis*. Cooper JE, Rao JR (eds), CAB International, UK
81. O’Connell AM (1997) Decomposition of slash residues in thinned regrowth Eucalypt forest in Western Australia. *J Appl Ecol* 34:111–122
82. Ohashi M, Gyokusen K, Saito A (1999) Measurement of carbon dioxide evolution from a Japanese cedar (*Cryptomeria japonica* D. Don) forest floor using an open-flow chamber method. *Forest Ecol Manag* 123:105–114
83. Onofri S, Selbmann L, de Hoog GS, Grube M, Barreca D, Ruisi S, Zucconi L (2007) Evolution and adaptation of fungi at boundaries of life. *Advance in Space Research* 40:1657–1664
84. Packer A, Clay K (2000) Soil pathogens and spatial patterns of seedling mortality in a temperate tree. *Nature* 404:278–281

85. Pietikäinen J, Fritze H (1995) Clear-cutting and prescribed burning in coniferous forest: comparison of effects on soil fungal and total microbial biomass, respiration activity and nitrification. *Soil Biol Biochem* 27:101–109
86. Prescott CE, Blevins LL, Staley CL (2000) Effects of clear-cutting on decomposition rates of litter and forest floor in forests of British Columbia. *Can J For Res* 30:1751–1757
87. Quideau SA, Chadwick OA, Benesi A, Graham RC, Anderson MA (2001) A direct link between forest vegetation type and soil organic matter composition. *Geoderma* 104:41–60
88. Roesch LFW, Fulthorpe RR, Riva A, Casella G, Hadwin AKM, Kent AD, Daroub SH, Camargo FAO, Farmerie WG, Triplett EW (2007) Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *Int Soc Microb Ecol* 1:283–290
89. SAS Institute Inc. (2004) SAS® IT Charge Management 2.4: Enterprise Reporter Installation Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc., Carolina, USA
90. Sayok AK, Chang M, Watterston KG (1993) Forest clearcutting and site preparation on a saline soil in East Texas: impact on sediment losses. *Sediment Problems: strategies for monitoring, Prediction and control (Proceedings of the Yokohama Symposium)*, pp 177–184
91. Secretariat of the Convention on Biological Diversity (2001) *The Value of Forest Ecosystems*. Montreal, SCBD, 67p. (CBD Technical

Series no. 4)

92. Shannon CE, Weaver W (1949) The mathematical theory of communication. Urbana IL: University of Illinois Press, USA
93. Shen W, Lin X, Gao N, Zhang H, Yin R, Shi W, Duan Z (2008) Land use intensification affects soil microbial populations, functional diversity and related suppressiveness of cucumber Fusarium wilt in China's Yangtze River Delta. *Plant Soil* 306:117–127
94. Siira-Pietikäinen A, Siira-Pietikäinen J, Fritze H, Haimi J (2001) Short-term responses of soil decomposer communities to forest management: clear felling versus alternative forest harvesting methods. *Can J For Res* 31:88–99
95. Smith NR, Kishchuk BE, Mohn WW (2008) Effects of wildfire and harvest disturbances on forest soil bacterial communities. *Appl Environ Microbiol* 74:216–224
96. Suding KN, Ashton IW, Bechtold H, Bowman WD, Mobley M, Winkleman R (2008) Plant and microbe contribution to community resilience in a directionally changing environment. *Ecol Monogr* 78:313–329
97. Tang J, Qi YE, Xu M, Misson L, Goldstein AH (2005) Forest thinning and soil respiration in a ponderosa pine plantation in the Sierra Nevada. *Tree Physiol* 25:57–66
98. Tate RL (1995) *Soil microbiology*. John Wiley & Sons, New York

99. Thibodeau L, Raymond P, Camiré C, Munson AD (2000) Impact of precommercial thinning in balsam fir stands on nitrogen dynamics, microbial biomass, decomposition and foliar nutrition. *Can J For Res* 30:229–238
100. Tilman D, Beich PB, Knops J, Wedin D, Mielke T, Lehman C (2001) Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. *Science* 294:843–845
101. Torsvik V, Sorheim R, Goksoyr J (1996) Total bacterial diversity in soil and sediment communities a review. *J Ind Microbiol* 17:170–178
102. Torsvik V, Øvreås L (2002) Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Curr Opin Microbiol* 5:240–245
103. Tortora GJ, Funke BR, Case CL (2007) *Microbiology*. 9th edn. Pearson Education, San Francisco, USA, pp 815
104. Tsai SH, Selvam A, Chang YP, Yang SS (2009) Soil bacterial community across different topographic sites characterized by 16S rRNA gene clones in the Fushan forest of Taiwan. *Bot Stud* 50:57–68
105. Vadakattu G, Paterson J (2006) Free-living bacteria lift soil nitrogen supply. *Farming Ahead* 169:40
106. Van der Heijden MGA, Bardgett RD, van Straalen NM (2008) The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and

- productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol Letters* 11:296–310
107. Van der Putten WH (2000) Pathogen – driven forest diversity. *Nature* 404:232–233
108. Waldrop MP, Balser TC, Firestone MK (2000) Linking microbial community composition to function in a tropical soil. *Soil Biol Biochem* 32:1837–1846
109. Wintzingerode Fv, Göbel UB, Stackebrandt E (1997) Determination of microbial diversity in environmental samples: pitfalls of PCR-bases rRNA analysis. *FEMS Microbiol Rev* 21:213–229
110. Witt C, Gaunt JL, Galicia CC, Ottow JCG, Neue HU (2000) A rapid chloroform-fumigation extraction method for measuring soil microbial biomass carbon and nitrogen in flooded rice soils. *Biol Fertil Soils* 30:510–519
111. Yang SS, Fan HY, Yang CK, Lin IC (2003) Microbial population of spruce soil in Tatachia mountain of Taiwan. *Chemosphere* 52:1489–1498
112. Yang SS, Tsai SH, Fan HY, Yang CK, Hung WL, Cho ST (2006) Seasonal variation of microbial ecology in hemlock soil of Tatachia mountain, Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 39:195–205
113. Yu Z, Morrison M (2004) Comparisons of different hypervariable regions of rrs genes for use in fingerprinting of microbial communities by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl*

114. Zak JC, Willig MR, Moorhead DL, Wildman HG (1994) Accelerated paper: functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biol Biochem* 26:1101–1108
115. Zak DR, Holmes WE, White DC, Peacock AD, Tilman D (2003) Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links? *Ecology* 84:2042–2050
116. Zhong Z, Makeschin F (2003) Soil biochemical and chemical changes in relation to mature spruce (*Picea abies*) forest conversion and regeneration. *J Plant Nutr Soil Sci* 166:291–299
117. Zhuang SY, Chen YM, Wang MK, Kuo SR, Hwong JL, King HB (2005) Influences of forestry thinning on soil nitrogen mineralization and nitrification. *Taiwan J For Sci* 20:167–177

表 目 錄

頁次

表 一、	七種林相土壤細菌群落遺傳多樣性之相似度分析結果.....	75
表 二、	塔塔加、大雪山與人倫林道土壤細菌群落遺傳多樣性之相似度分析.....	77
表 三、	七種林相土壤細菌的變性梯度膠體電泳條帶數與遺傳多樣性指數.....	78
表 四、	人倫林道柳杉林土壤菌數與環境因子之複迴歸分析...	79
表 五、	不同疏伐處理下人倫林道柳杉林土壤細菌群落遺傳多樣性之相似度分析.....	80
表 六、	不同疏伐處理下大雪山紅檜林土壤細菌群落遺傳多樣性之相似度分析.....	81
表 七、	不同疏伐處理下人倫林道柳杉林土壤細菌的變性梯度膠體電泳條帶數，與其季節性變化.....	82
表 八、	不同疏伐處理下人倫林道柳杉林土壤細菌的遺傳多樣性指數，與其季節性變化.....	83
表 九、	人倫林道柳杉林未疏伐樣區土壤細菌的遺傳多樣性季節性變化之相似度分析.....	84
表 十、	人倫林道柳杉林 25%疏伐處理樣區土壤細菌的遺傳多樣性季節性變化之相似度分析.....	85
表十一、	人倫林道柳杉林 50%疏伐處理樣區土壤細菌的遺傳多樣性季節性變化之相似度分析.....	86
表十二、	人倫林道柳杉林不同疏伐處理下土壤微生物群落層級生理譜之相似度分析.....	87
表十三、	大雪山紅檜林不同疏伐處理下土壤微生物群落層級	

	生理譜之相似度分析.....	88
表十四、	人倫林道柳杉林不同疏伐處理下，土壤微生物群落層級生理譜的平均吸光值與功能多樣性指數.....	89
表十五、	大雪山紅檜林不同疏伐處理下，土壤微生物群落層級生理譜的平均吸光值與功能多樣性指數.....	90
表十六、	人倫林道柳杉林土壤微生物對四種碳源的利用反應與環境因子之複迴歸分析.....	91

圖 目 錄

	頁次
圖 一、 人倫林道柳杉林樣區分佈及疏伐處理示意圖.....	92
圖 二、 大雪山紅檜林樣區位置圖.....	93
圖 三、 塔塔加四種林相樣區位置圖.....	94
圖 四、 人倫林道柳杉林樣區的採樣點設置.....	95
圖 五、 不同林相土壤的六類微生物菌數的季節性變化.....	96
圖 六、 草原與六種林相土壤細菌變性梯度膠體電泳指紋圖譜	97
圖 七、 草原與六種林相土壤細菌群落遺傳多樣性之 MDS 圖	100
圖 八、 塔塔加、大雪山與人倫林道土壤細菌群落遺傳多樣性 之 MDS 圖.....	101
圖 九、 柳杉與紅檜林土壤微生物群落層級生理譜之 MDS 圖...	102
圖 十、 人倫林道柳杉林不同疏伐處理下六類微生物菌數的季 節性變化.....	103
圖十一、 人倫林道柳杉林東向坡與北向坡土壤放線菌菌數.....	104
圖十二、 人倫林道柳杉林不同疏伐處理土壤細菌變性梯度膠體 電泳指紋圖譜.....	106
圖十三、 人倫林道柳杉林不同疏伐處理下土壤細菌群落遺傳多 樣性之 MDS 圖.....	108
圖十四、 大雪山紅檜林不同疏伐處理土壤細菌變性梯度膠體電 泳指紋圖譜.....	111
圖十五、 大雪山紅檜林不同疏伐處理下土壤細菌群落遺傳多樣 性之 MDS 圖.....	112
圖十六、 人倫林道柳杉林不同疏伐處理樣區土壤細菌群落遺傳 多樣性的季節性變化.....	113
圖十七、 人倫林道柳杉林疏伐後第一年，不同疏伐處理下土壤 微生物群落層級生理譜之 MDS 圖.....	115

圖十八、 人倫林道柳杉林疏伐後第二年，不同疏伐處理下土壤 微生物群落層級生理譜之MDS圖.....	116
圖十九、 大雪山紅檜林疏伐後第四年，不同疏伐處理下土壤微 生物群落層級生理譜之MDS圖.....	117

附 錄 目 錄

	頁次
附錄一、 培養基配製.....	118
附錄二、 抗生素的製備.....	124
附錄三、 GN2 Microplate 上 95 種碳源種類.....	125
附錄四、 人倫林道柳杉林疏伐後第一年兩種疏伐處理與控制 組土壤樣本分別對 95 種碳源的利用反應.....	126
附錄五、 人倫林道柳杉林疏伐後第二年兩種疏伐處理與控制 組土壤樣本分別對 95 種碳源的利用反應.....	128
附錄六、 大雪山紅檜林兩種疏伐處理與控制組土壤樣本分別 對 95 種碳源的平均利用反應.....	130
附錄七、 塔塔加地區採樣前十天累積雨量圖.....	132

表一、草原及雲杉、鐵杉、台灣二葉松、紅檜、柳杉和闊葉林等六種林相土壤的細菌群聚結構之比較。

Table 1. Comparison of community structure of soil bacteria among grassland and forests of spruce, hemlock, Taiwan red pine, red cypress, Japanese cedar and broadleaf forest.

Pairwise test		R statistic	p-value
Spruce	Hemlock	0.185	0.2
Spruce	Grassland	0.444	0.1*
Spruce	Taiwan red pine	0.926	0.1*
Spruce	Broadleaf forest	0.852	0.1*
Spruce	Red cedar	1	0.1*
Spruce	Japanese cedar	1	0.1*
Hemlock	Grassland	0.296	0.1*
Hemlock	Taiwan red pine	0.759	0.1*
Hemlock	Broadleaf forest	0.704	0.1*
Hemlock	Red cedar	1	0.1*
Hemlock	Japanese cedar	1	0.1*
Grassland	Taiwan red pine	0.241	0.2
Grassland	Broadleaf forest	0.630	0.1*
Grassland	Red cedar	0.778	0.1*
Grassland	Japanese cedar	0.704	0.1*
Taiwan red pine	Broadleaf forest	1	0.1*
Taiwan red pine	Red cedar	1	0.1*
Taiwan red pine	Japanese cedar	1	0.1*
Broadleaf forest	Red cedar	0.444	0.2

(續下頁)

(承上頁)

Broadleaf forest	Japanese cedar	0.704	0.1*
Red cedar	Japanese cedar	1	0.1*
Global		0.738	0.001***

R statistic : an index of difference between groups

Global : a comparison among all groups

* : bacterial community structure significantly different at $p < 0.1$, due to small sample size of each pair

*** : bacterial community structure significantly different at $p < 0.001$

表二、塔塔加、大雪山與人倫林道土壤細菌群聚結構之比較。

Table 2. Comparison of community structures of soil bacterial among Tatachia, Da-Sueh Shan and Renlun.

Pairwise test		R statistic	p-value
Tatachia	Da-Sueh Shan	0.799	0.001 ***
Tatachia	Renlun	0.619	0.002 **
Da-Sueh Shan	Renlun	0.673	0.012 *
Global		0.726	0.001 ***

R statistic : an index of difference between groups

Global : a comparison among all groups

*, ** and *** : significantly different at $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively

表三、雲杉、鐵杉、台灣二葉松、紅檜、柳杉和闊葉林等六種林相及草原的土壤細菌 DGGE 條帶數與據條帶數所計算出的 Shannon 多樣性指數之比較。

Table 3. Comparison of DGGE band numbers and Shannon diversity index calculated from DGGE band number among spruce, hemlock, Taiwan red pine, red cypress and Japanese cedar, broadleaf forests and grassland.

Stand types	Number of bands	Shannon index
Spruce	21.33 ± 2.89	3.05 ± 0.14
Hemlock	20.33 ± 1.53	3.01 ± 0.07
Grassland	18.33 ± 1.15	2.91 ± 0.06
Taiwan red pine	17.33 ± 2.89	2.84 ± 0.18
Broadleaf forest	17.00 ± 3.00	2.82 ± 0.18
Red cypress	15.33 ± 2.52	2.72 ± 0.16
Japanese cedar	19.33 ± 1.53	2.96 ± 0.08

Means and standard deviations were presented

Band number and Shannon diversity index were not significantly different among 6 stand types and a grassland after analyzed with ANOVA and Kruskal-Wallis rank sum test, respectively

表四、人倫林道柳杉林林土壤樣本以平板計數法獲得細菌、真菌及纖維素分解菌菌數，與環境因子間的相關性分析。

Table 4. The relationships between population of bacteria, fungi and cellulolytic microbes of *Cryptomeria japonica* plantation obtained from plate count method and environmental factors. Environmental factors with high contribution to the variance were choosed in regression model and significant levels were presented.

Environmental variables	Bacteria	Fungi	Cellulytic microbes
Water content	0.206	0.081	0.202
pH	†	0.216	0.001 ***
Organic matter	0.198	<0.001 ***	0.006 **
Total N	0.054		0.339
Inorganic N	0.068	0.175	0.055
Available P	0.034 *	0.092	0.002 **
Water soluble P	0.001 **		0.032 *
Sulfate			0.258
Cellulase		0.041 *	0.008 **
β-glucosaminidase			0.068
Acid phosphatase			0.035 *
Arylsulfatase	0.061		0.125
Dehydrogenase			
Microbial biomass C	0.034 *		
Microbial biomass N	0.117		0.028 *
Soil respiration	0.014 *		
Soil temperature		0.059	0.041 *
Soil moisture	0.039 *	0.209	

Data of soil properties and enzyme activities was provided by Prof. Chao-Ming Lai (unpublished data) and data of soil respiration was provided by Prof. Yau-Lun Kuo (unpublished data).

p values and its significant levels were presented.

*, ** and *** : significantly different at $p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively

† : Blank was indicated the environmental factor was not selected by statistical software in the regression model

表五、2008 年 10 月到 2009 年 10 月期間柳杉林兩種疏伐處理以及控制組樣區土壤細菌群聚結構之比較。

Table 5. Comparison of community structures of soil bacterial among two thinning treatments and control plots of *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun during October 2008 to October 2009.

Pairwise test		Oct-08		Jan-09		Mar-09		Aug-09		Oct-09	
		R statistic	p-value	R statistic	p-value	R statistic	p-value	R statistic	p-value	R statistic	p-value
Control	25%	0.695	0.001 ***	0.465	0.001 ***	0.566	0.001 ***	0.049	0.152	-0.082	0.969
Control	50%	0.762	0.001 ***	0.655	0.001 ***	0.615	0.001 ***	-0.008	0.461	0.016	0.341
25%	50%	0.622	0.001 ***	0.730	0.001 ***	0.506	0.001 ***	-0.064	0.123	0.034	0.235
Global		0.672	0.001 ***	0.588	0.001 ***	0.557	0.001 ***	0.028	0.189	-0.008	0.540

R statistic : an index of difference between groups

Global : a comparison among all groups

*** : significantly different at $p < 0.001$

表六、大雪山紅檜林兩種疏伐處理以及控制組樣區土壤細菌群聚結構之比較。

Table 6. Comparison of community structure of soil bacterial among two thinning treatments and control plots of *Chamaecyparis formosensis* plantation of Da-Sueh Shan.

Pairwise test		R statistic	p-value
Control	35%	0.778	0.100 * _s
Control	45%	0.963	0.100 * _s
35%	45%	-0.167	0.900
Global		0.486	0.032 *

R statistic : an index of difference between groups

Global : a comparison among all groups

* : significantly different at $p < 0.05$

*_s : significantly different at $p < 0.1$, due to small sample size of each pair

表七、2008 年 10 月到 2009 年 10 月調查期間，人倫林道柳杉林兩種疏伐處理與控制組間土壤細菌 DGGE 條帶數之比較。

Table 7. Comparison of DGGE band numbers of soil bacterial among two thinning treatments and control plots of *Cryptomerica japonica* plantation of Renlun during October 2008 to October 2009.

Treatment	Oct-08	Jan-09	Mar-09	Aug-09	Oct-09
Control	25.33 ± 3.52 ^{a*}	21.92 ± 3.15 ^{ab}	16.42 ± 2.31 ^b	21.83 ± 1.85 ^a	16.92 ± 2.47
25% thinning	19.58 ± 2.07 ^b	20.92 ± 2.02 ^b	18.75 ± 1.82 ^a	19.67 ± 2.67 ^b	17.00 ± 2.30
50% thinning	26.75 ± 2.14 ^a	23.83 ± 1.64 ^a	18.17 ± 2.04 ^a	19.92 ± 2.64 ^{ab}	16.08 ± 3.06

*: Different letters of the same column represented the difference was significant at Duncan's multiple ranges test or Wilcoxon Rank Sum test ($p < 0.05$); column without letters suggested no difference among treatments

表八、2008年10月到2009年10月調查期間，人倫林道柳杉林兩種疏伐處理間與控制組間以 DGGE 條帶計算之 Shannon 多樣性指數比較。

Table 8. Comparison of Shannon diversity indexes calculated from DGGE band numbers of soil bacteria among two thinning treatments and control plots of *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun during October 2008 to October 2009.

Treatment	Oct-08	Jan-09	Mar-09	Aug-09	Oct-09
Control	3.22 ± 0.15 ^{a*}	3.08 ± 0.14 ^{ab}	2.79 ± 0.15 ^b	3.08 ± 0.08 ^a	2.82 ± 0.15
25% thinning	2.97 ± 0.11 ^b	3.04 ± 0.10 ^b	2.93 ± 0.10 ^a	2.97 ± 0.14 ^b	2.82 ± 0.14
50% thinning	3.28 ± 0.08 ^a	3.17 ± 0.07 ^a	2.89 ± 0.12 ^a	2.98 ± 0.13 ^b	2.76 ± 0.22

* : Different letters in the same column represented significant difference at $p < 0.05$ in Wilcoxon Rank Sum test; column with no letters suggested no difference among treatments

表九、人倫林道柳杉林未疏伐樣區五季的土壤細菌群落結構之比較。

Table 9. Comparison of community structure of soil bacterial among 5 survey seasons of unthinned *Cryptomerica japonica* plantation of Renlun.

Pairwise test		R statistic	p-value
Oct-08	Jan-09	0.943	0.001 ***
Oct-08	Mar-09	0.889	0.001 ***
Oct-08	Aug-09	0.535	0.001 ***
Oct-08	Oct-09	0.677	0.001 ***
Jan-09	Mar-09	0.720	0.001 ***
Jan-09	Aug-09	0.766	0.001 ***
Jan-09	Oct-09	0.621	0.001 ***
Mar-09	Aug-09	0.790	0.001 ***
Mar-09	Oct-09	0.671	0.001 ***
Aug-09	Oct-09	0.494	0.001 ***
Global		0.693	0.001 ***

R statistic : an index of difference between groups

Global : a comparison among all groups

*** : significantly different at $p < 0.001$

表十、人倫林道柳杉林 25%疏伐處理樣區五季的土壤細菌群落結構之比較。

Table 10. Comparison of community structure of soil bacterial among 5 survey seasons of 25% thinned *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun.

Pairwise test		R statistic	p-value
Oct-08	Jan-09	0.920	0.001 ***
Oct-08	Mar-09	0.782	0.001 ***
Oct-08	Aug-09	0.593	0.001 ***
Oct-08	Oct-09	0.695	0.001 ***
Jan-09	Mar-09	0.512	0.001 ***
Jan-09	Aug-09	0.809	0.001 ***
Jan-09	Oct-09	0.719	0.001 ***
Mar-09	Aug-09	0.674	0.001 ***
Mar-09	Oct-09	0.444	0.001 ***
Aug-09	Oct-09	0.399	0.001 ***
Global		0.653	0.001 ***

R statistic : an index of difference between groups

Global : a comparison among all groups

*** : significantly different at $p < 0.001$

表十一、人倫林道柳杉林 50%疏伐處理樣區五季的土壤細菌群落結構之比較。

Table 11. Comparison of community structure of soil bacterial among 5 survey seasons of 50% thinned *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun.

Pairwise test		R statistic	p-value
Oct-08	Jan-09	0.791	0.001 ***
Oct-08	Mar-09	0.921	0.001 ***
Oct-08	Aug-09	0.868	0.001 ***
Oct-08	Oct-09	0.745	0.001 ***
Jan-09	Mar-09	0.650	0.001 ***
Jan-09	Aug-09	0.737	0.001 ***
Jan-09	Oct-09	0.736	0.001 ***
Mar-09	Aug-09	0.829	0.001 ***
Mar-09	Oct-09	0.605	0.001 ***
Aug-09	Oct-09	0.537	0.001 ***
Global		0.735	0.001 ***

R statistic : an index of difference between groups

Global : a comparison among all groups

*** : significantly different at $p < 0.001$

表十二、人倫林道柳杉林疏伐後第一年(2008年10月)與第二年(2009年8月)控制組與二種疏伐處理土壤微生物群落層級生理譜之比較。

Table 12. Community level physiological profiles of soil microorganisms in 1st and 2nd year after thinning in *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun were compared among control and two thinning treatments.

Pairwise test		Oct-08		Aug-09	
		R statistic	p-value	R statistic	p-value
Control	25%	0.019	0.179	0.117	0.003 **
Control	50%	0.123	0.002 **	0.031	0.136
25%	50%	0.054	0.052	0.053	0.038 *
Global		0.065	0.005 **	0.069	0.003 **

R statistic : an index of difference between groups

Global : a comparison among all groups

* and ** : significantly different at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively

表十三、大雪山紅檜林控制組與二種疏伐處理土壤微生物群落層級生理譜之比較。

Table 13. Community level physiological profiles of soil microorganisms of *Chamaecyparis formosensis* plantation of Da-Sueh Shan were compared among control and two thinning treatments.

	Pairwise test	R statistic	p-value
Control	35%	0.617	0.002 **
Control	45%	0.393	0.015 *
35%	45%	0.056	0.260
	Global	0.342	0.004 **

R statistic : an index of difference between groups

Global : a comparison among all groups

* and ** : significantly different at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively

表十四、人倫林道柳杉林疏伐後第一年(2008年10月)與第二年(2009年8月)控制組與二種強度疏伐處理土壤微生物群落層級生理譜的平均吸光值(average well color development, AWCD) 以及 Shannon 多樣性指數之比較。

Table 14. AWCDs and Shannon diversity indexes calculated from community level physiological profiles of soil microorganisms in 1st and 2nd year after thinning in *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun were compared among control and two thinning treatments.

Treatment	Oct-08		Aug-09	
	AWCD	H'	AWCD	H'
Control	0.42±0.19 ^{b*}	4.09±0.17 ^b	0.50±0.14 ^b	4.15±0.05 ^b
25% thinning	0.48±0.15 ^b	4.14±0.10 ^b	0.61±0.11 ^a	4.22±0.09 ^a
50% thinning	0.58±0.16 ^a	4.21±0.12 ^a	0.54±0.14 ^b	4.17±0.08 ^{ab}

* : Different letters in the same column represented significant difference at $p < 0.05$ in Duncan's multiple ranges test or Wilcoxon Rank Sum test

表十五、大雪山紅檜林控制組與二種強度疏伐處理土壤微生物群落層級生理譜的平均吸光值(Average well color development, AWCD) 以及 Shannon 多樣性指數之比較。

Table 15. AWCDs and Shannon diversity indexes calculated from community level physiological profiles of soil microorganisms of *Chamaecyparis formosensis* plantation of Da-Sueh Shan were compared among control and two thinning treatments.

Treatment	H'	AWCD
Control	4.06 ± 0.28 ^{a*}	0.42 ± 0.26 ^a
35% thinning	3.66 ± 0.32 ^b	0.09 ± 0.06 ^b
45% thinning	3.73 ± 0.15 ^b	0.14 ± 0.06 ^b

* : Different letters in the same column represented significant difference at $p < 0.05$ in Duncan's multiple ranges test or Wilcoxon Rank Sum test

表十六、人倫林道柳杉林土壤微生物群落對四種碳源的利用反應與環境因子間關係。表中呈現複迴歸模型篩選出貢獻度高的環境因子項目以及與碳源利用反應間關係的顯著性。

Table 16. The relationships between utilization of 4 carbon species by soil bacterial community of *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun and environmental factors were analyzed with multiple-regression. Environmental factors with high contribution to the variance were choosed in regression model and significant levels were presented.

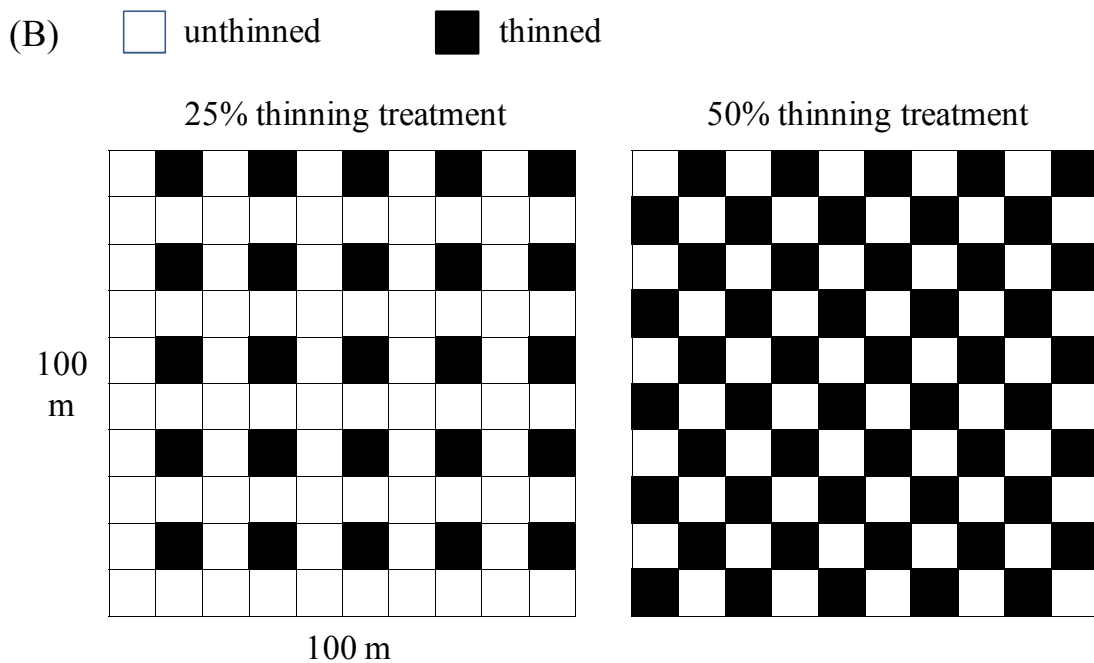
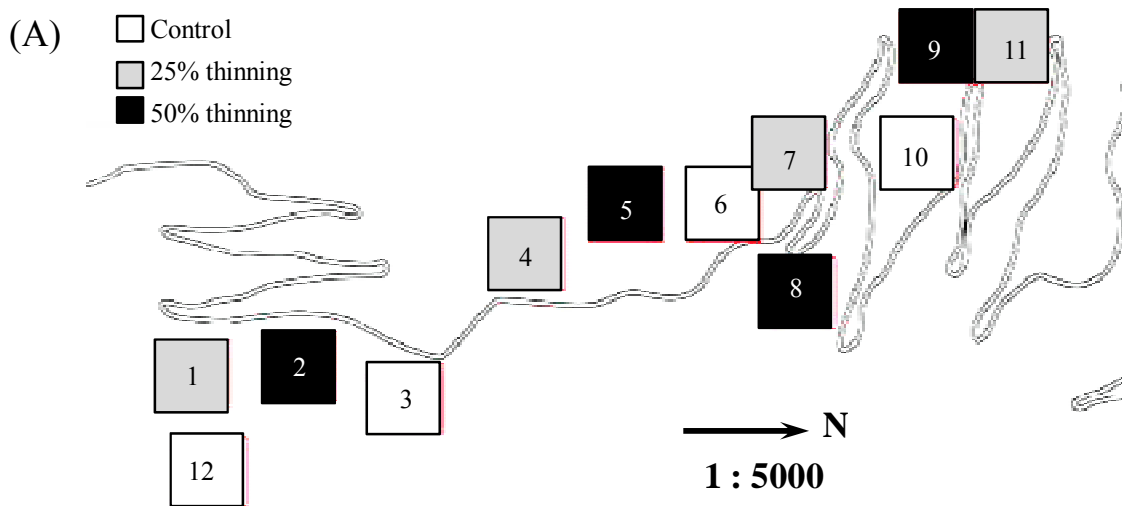
	A5 Tween 40	A9 Adonitol	B3 L-fructose	C4 D-raffinose
Water content	0.027*	0.004**	0.060	0.047*
pH	†			0.241
Oraganic matter	0.063	0.035*	0.138	0.031*
Total N		0.016*	0.079	
Inorganic N	0.275	0.017*	0.030*	0.027*
Microbial biomass C	0.080	0.226		0.332
Microbial biomass N			0.025*	0.148

Data of soil properties and enzyme acitivities were provied by Prof. Chao-Ming Lai (unpulbished data).

p values and its significant levels were presented

* and ** : significantly different at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively

† : Blank was indicated the environmental factor was not selectived by statistical software in the regression model



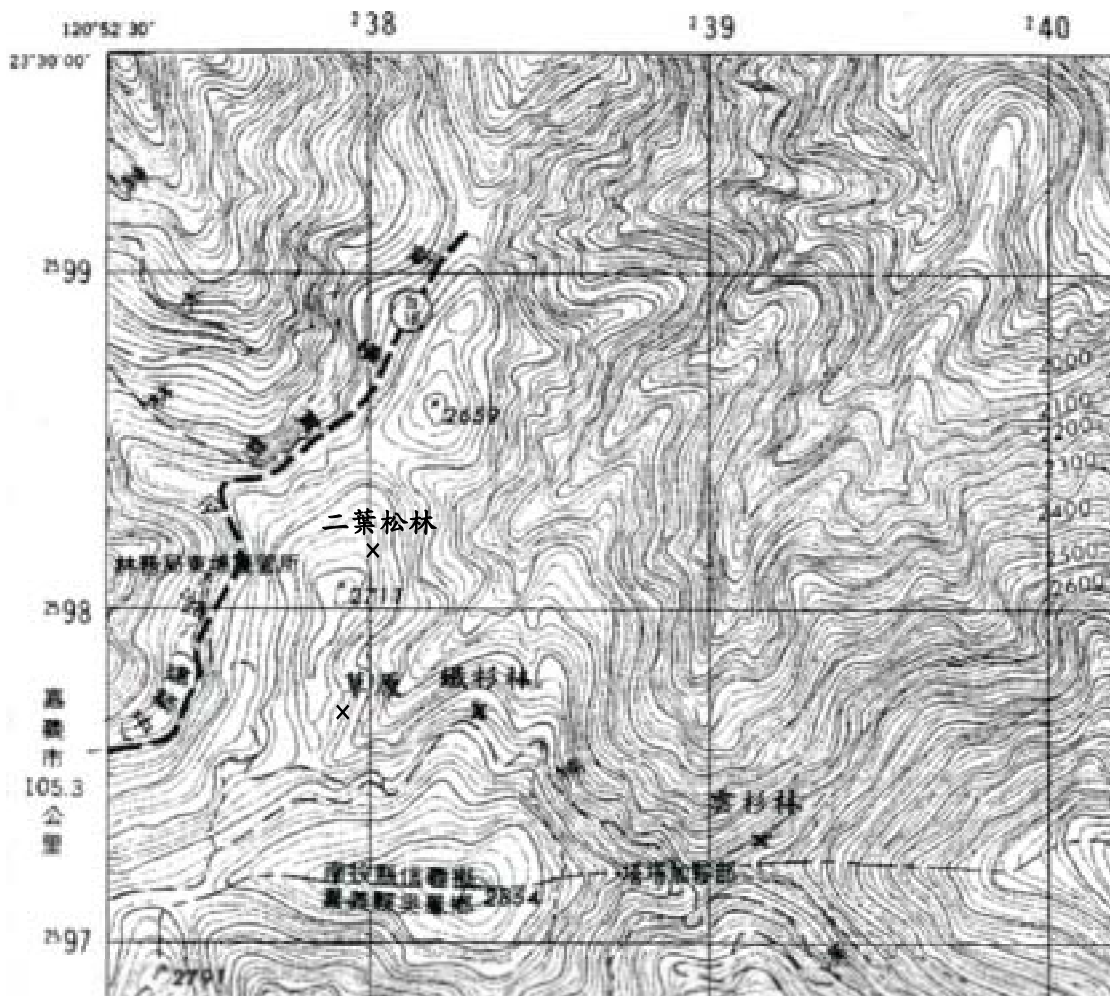
圖一、人倫林道柳杉林 12 個 1 公頃樣區位置圖及各樣區與疏伐處理 (A)。兩種疏伐強度樣區之疏伐方式示意圖(B)。

Fig. 1. Twelve 1-ha plots with control and two thinning intensities distributed in the *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun (A). Cutting areas within 1-ha plot of two thinning treatments were shown (B).



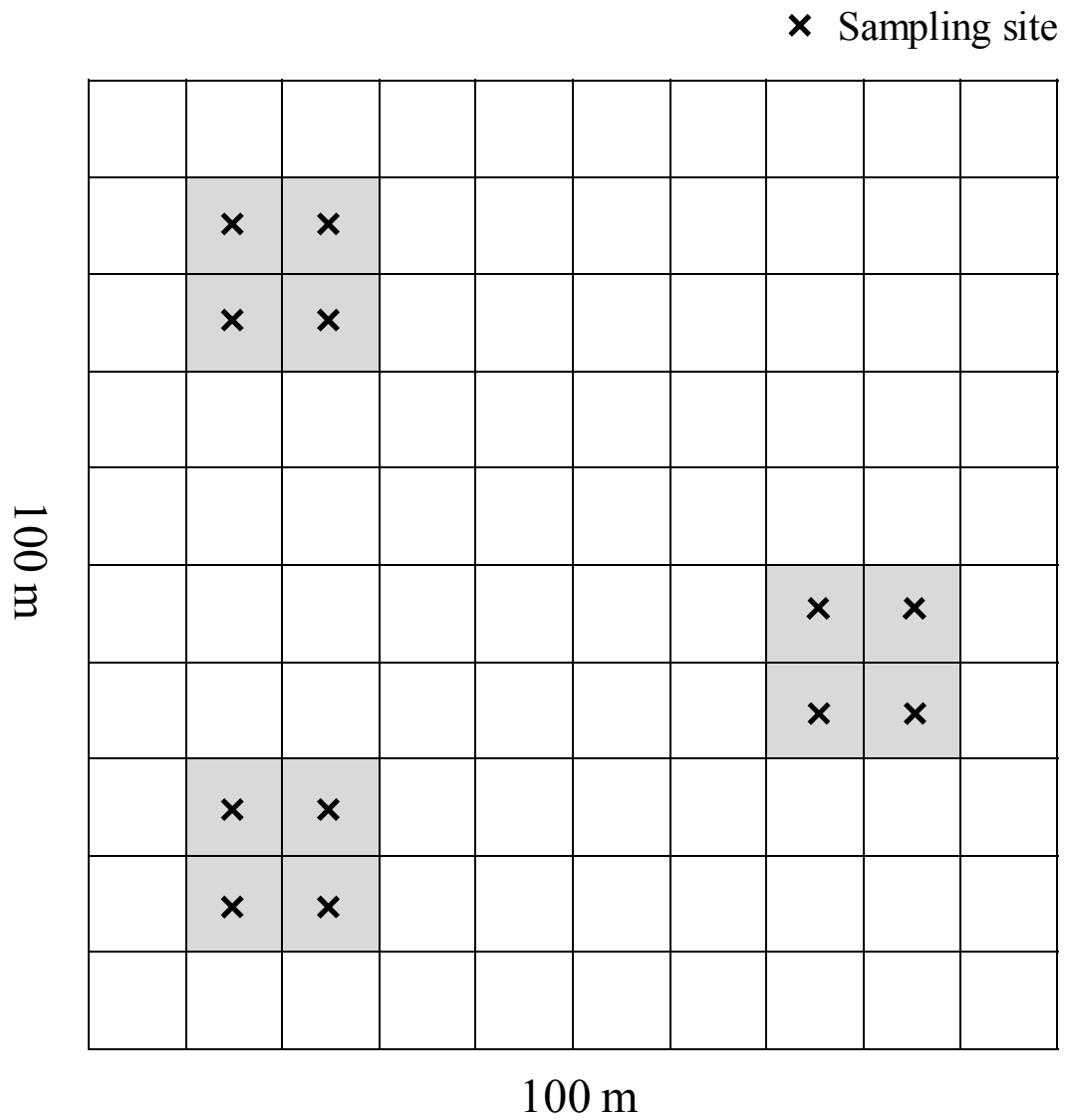
圖二、大雪山紅檜林中度疏伐(35%)、強度疏伐(45%)以及未疏伐控制組樣區地理位置圖 (東勢林區管理處)。

Fig. 2. Plots of 35% thinning, 45% thinning treatments and control distributed in a *Chamaecyparis formosensis* plantation of Da-Sueh Shan.



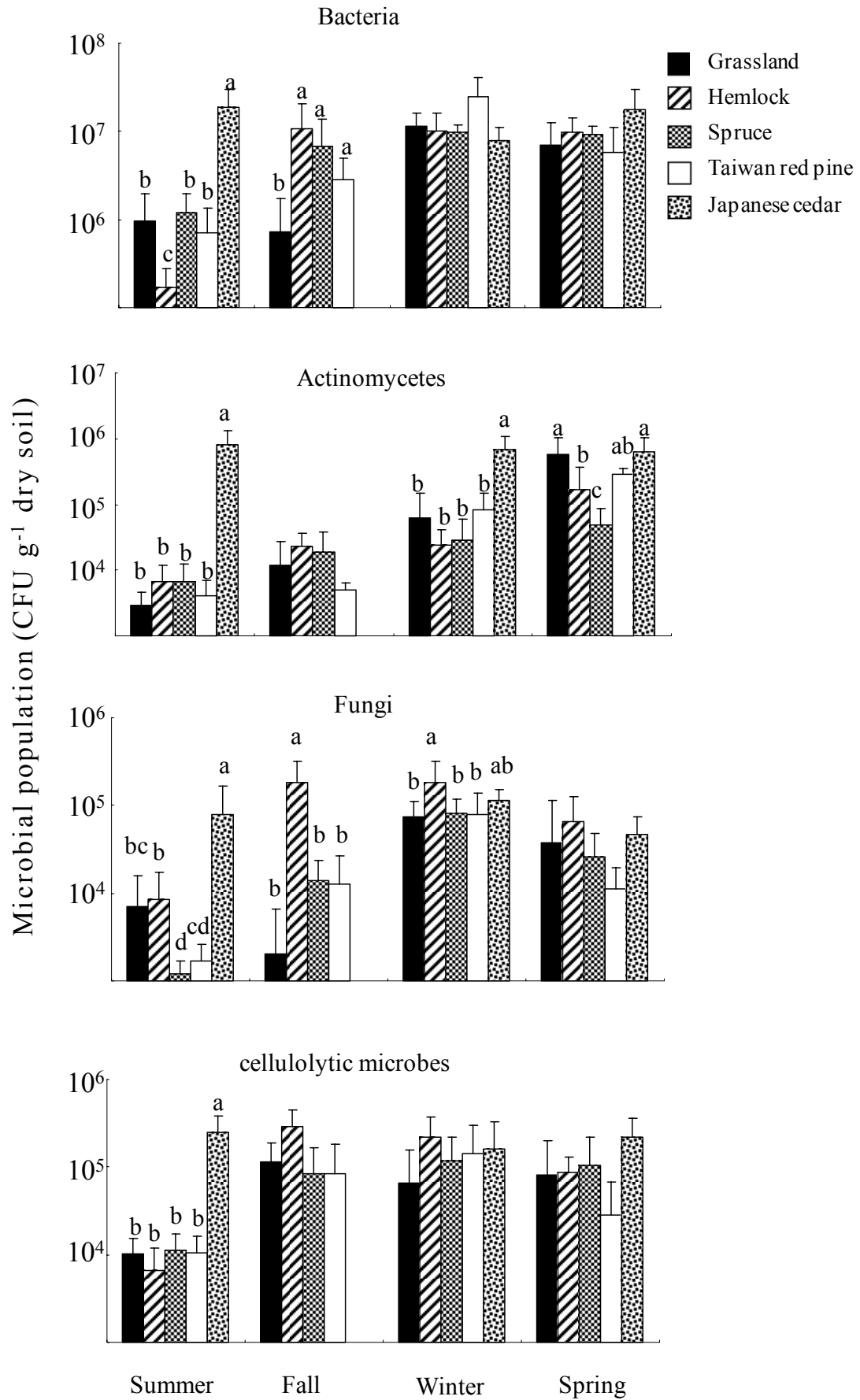
圖三、塔塔加草原、雲杉、鐵杉與二葉松林之地理位置 (莊等人，2005b)。

Fig. 3. The locations of grassland and spruce, hemlock and Taiwan red pine forests in Tatachia.



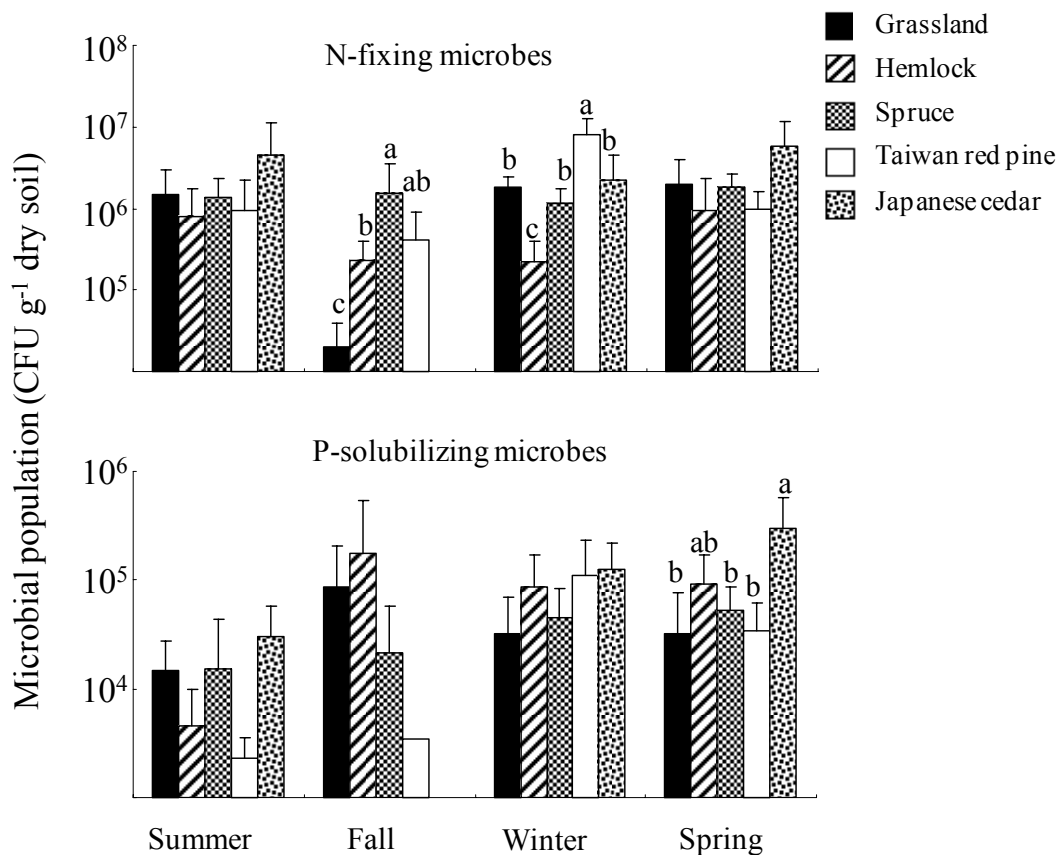
圖四、人倫林道柳杉林一公頃樣區內 12 個採樣點的位置。

Fig. 4. Twelve sampling sites in the 1-ha *Cryptomeria japonica* plantation plot of Renlun.



(接下頁)

(接上頁)



圖五、不同季節草原、台灣鐵杉、雲杉、二葉松與柳杉林土壤中細菌、放線菌、真菌、纖維素分解菌、固氮菌與溶磷菌菌數的變化 (秋季柳杉林菌數未調查)。長條表示菌數的平均值與標準差，上方標示不同字母表示當季林相間的菌數有顯著差異，無字母表示差異不顯著。

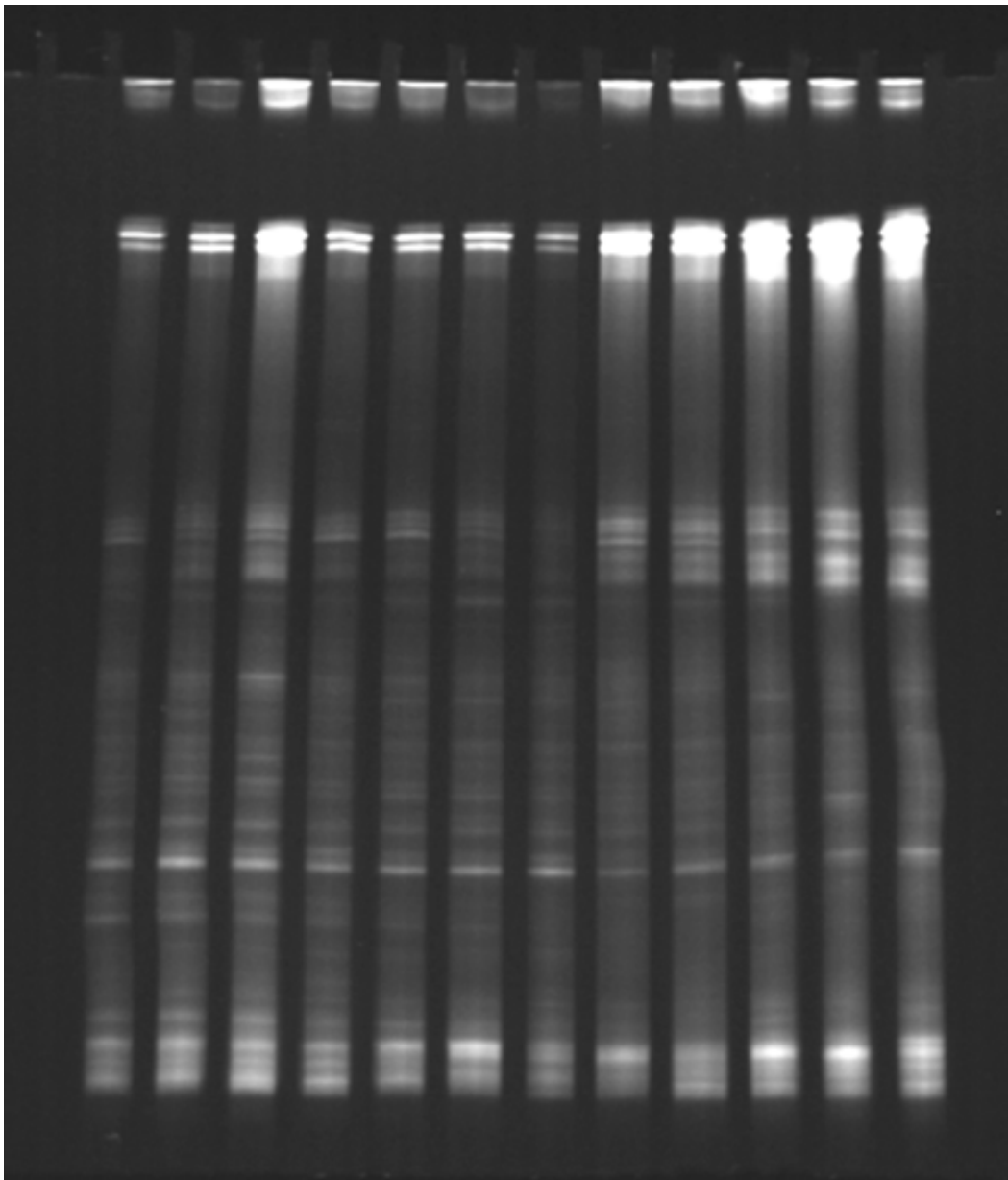
Fig. 5. Seasonal variations of populations of bacteria, actinomyces, fungi, cellulolytic microbe, N-fixing microbe and P-solubilizing microbe in grassland, hemlock, spruce, Taiwan red pine and Japanese cedar forest soils (Soil plate counts of the Japanese cedar in fall were not determined). Bars showed means and standard deviations. Different letters above bars represented significantly different between stand types. Bars without letter represented the difference was not significant.

spruce

hemlock

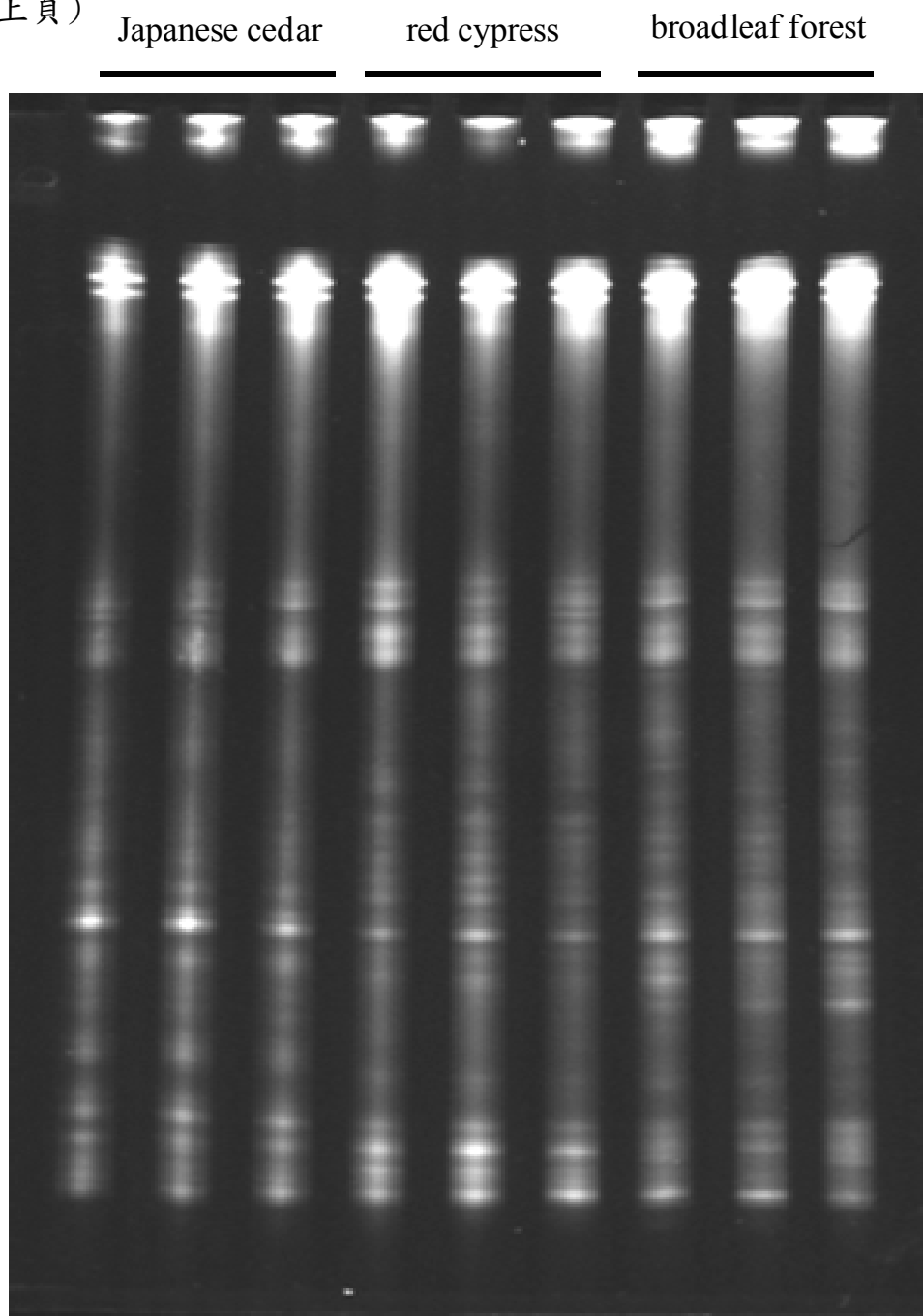
grassland

Taiwan red
pine



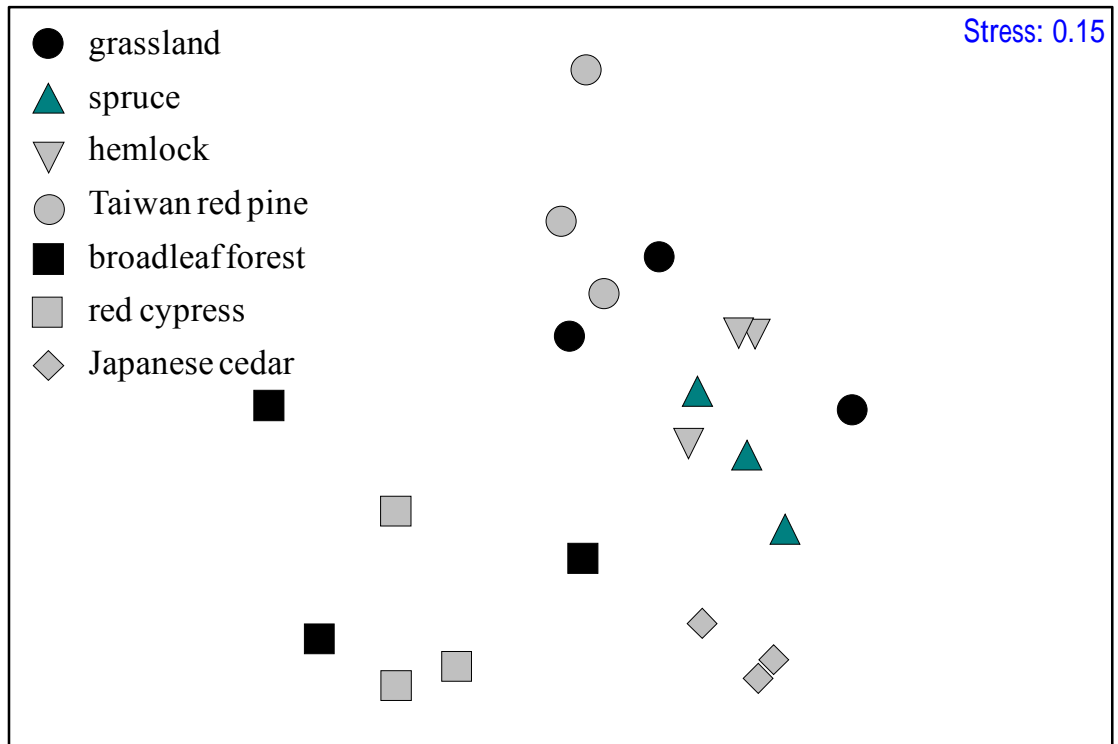
(接下頁)

(接上頁)



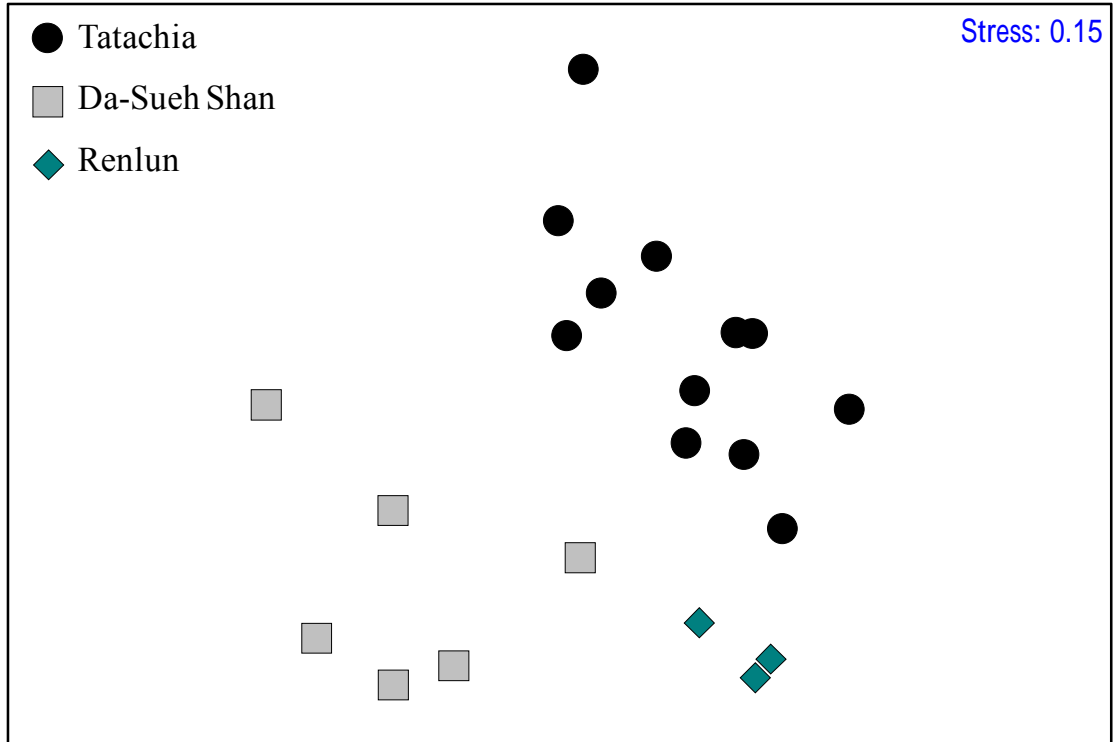
圖六、鐵杉、雲杉、草原、二葉松、柳杉林、紅檜林與闊葉林土壤細菌變性梯度膠體電泳指紋圖譜。

Fig. 6. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) fingerprinting of soil bacteria of grassland, hemlock, spruce, Taiwan red pine, Japanese cedar, red cypress and broadleaf forests.



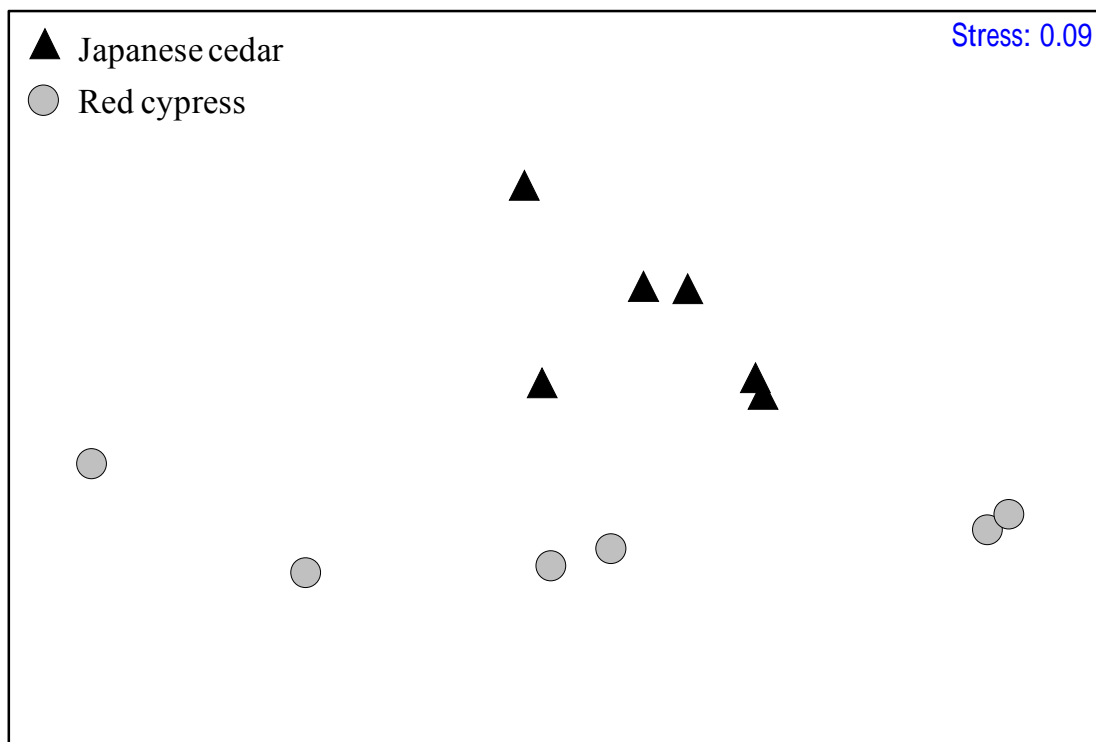
圖七、以變性梯度膠體電泳(DGGE)分析雲杉、鐵杉、二葉松、草原、紅檜、闊葉林及柳杉林土壤細菌群落遺傳多樣性，所得之 MDS 圖形。

Fig. 7. Multidimensional scaling of genetic diversity of soil bacterial community of spruce, hemlock, Taiwan red pine, broadleaf, red cypress and Japanese cedar forests, and grassland based on DGGE profiles.



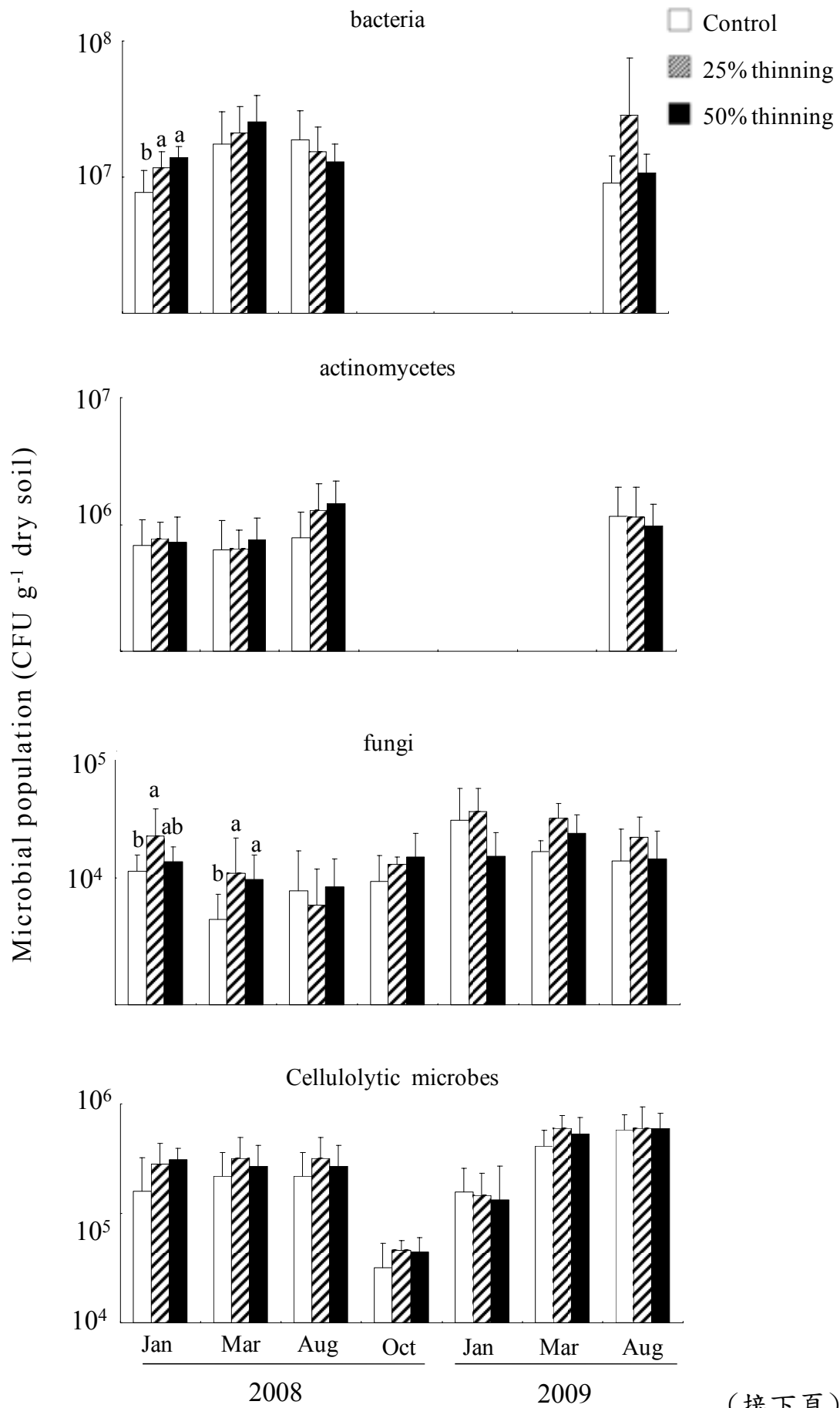
圖八、以變性梯度膠體電泳(DGGE)分析塔塔加、大雪山與人倫林道土壤細菌群落的遺傳多樣性，所得之 MDS 圖形。

Fig. 8. Multidimensional scaling of genetic diversity of soil bacterial community of Tatachia, Da-Sueh Shan and Renlun based on DGGE profiles.

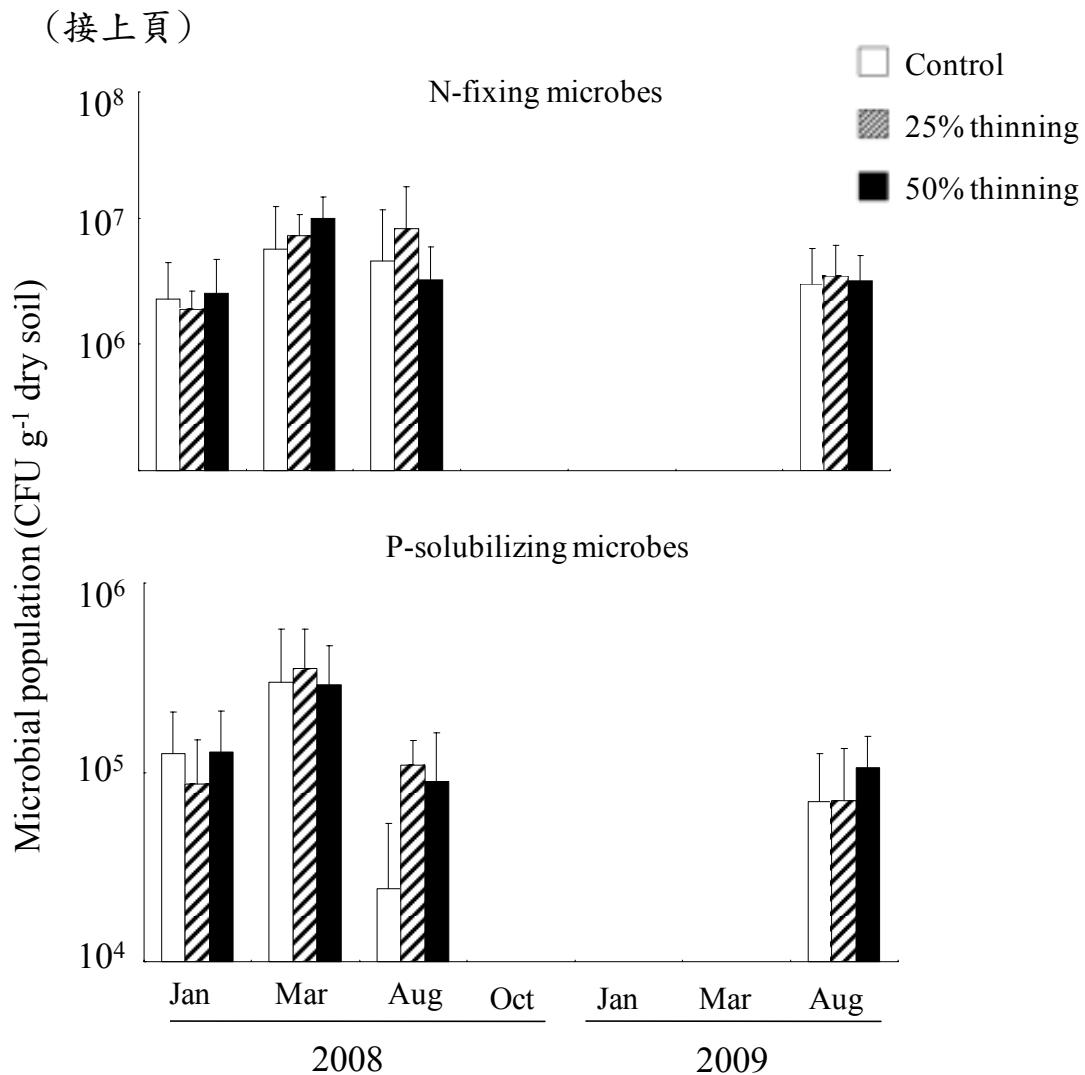


圖九、柳杉與紅檜林土壤微生物群落層級生理譜之 MDS 圖形。

Fig. 9. Multidimensional scaling of community level physiological profiles of soil microorganisms of Japanese cedar and red cypress plantations.

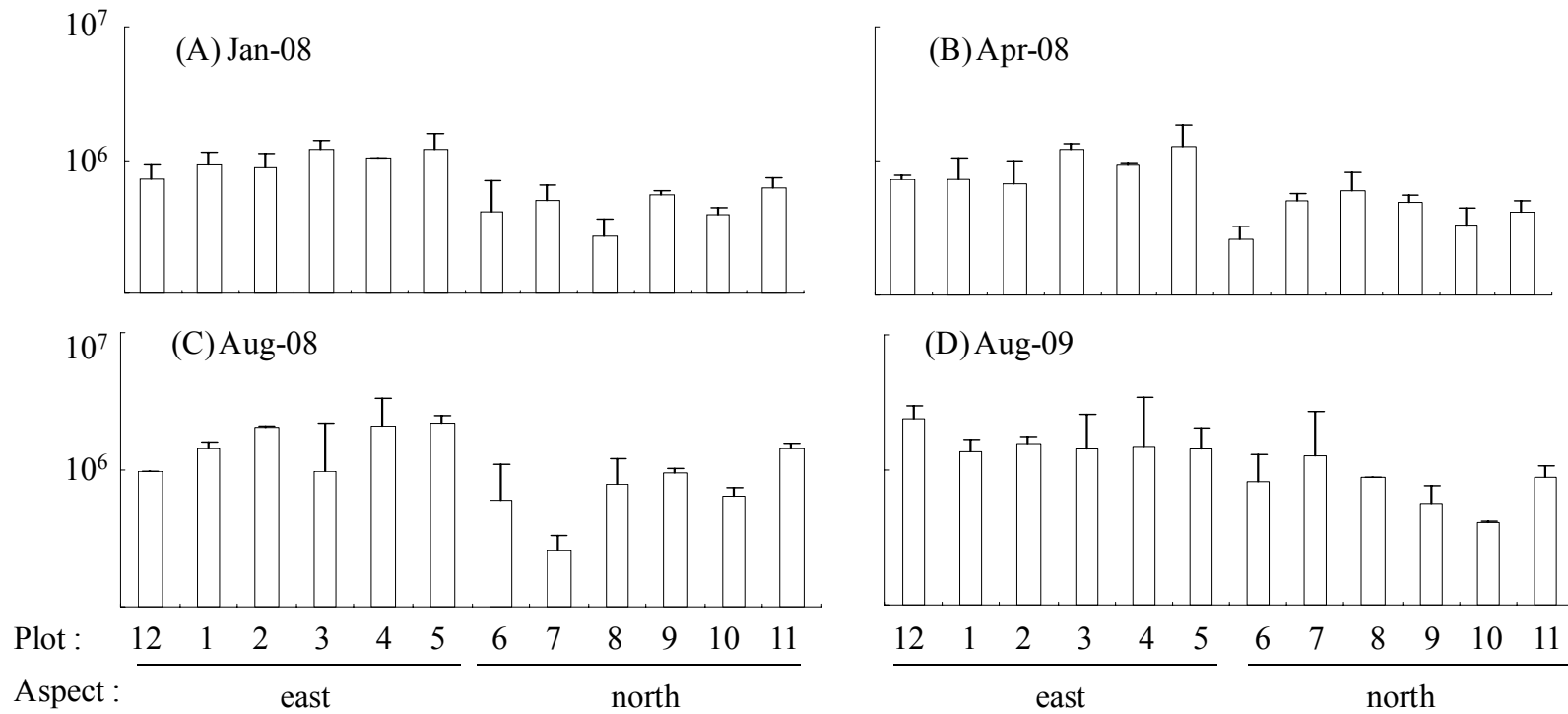


(接下頁)



圖十、2008年1月到2009年8月，人倫林道柳杉林兩種疏伐強度處理與控制組樣區土壤細菌、放線菌、真菌、纖維素分解菌、固氮菌與溶磷菌菌數。長條表示菌數的平均值與標準差，上方標示不同字母表示當季林相間的菌數有顯著差異，無字母表示差異不顯著。

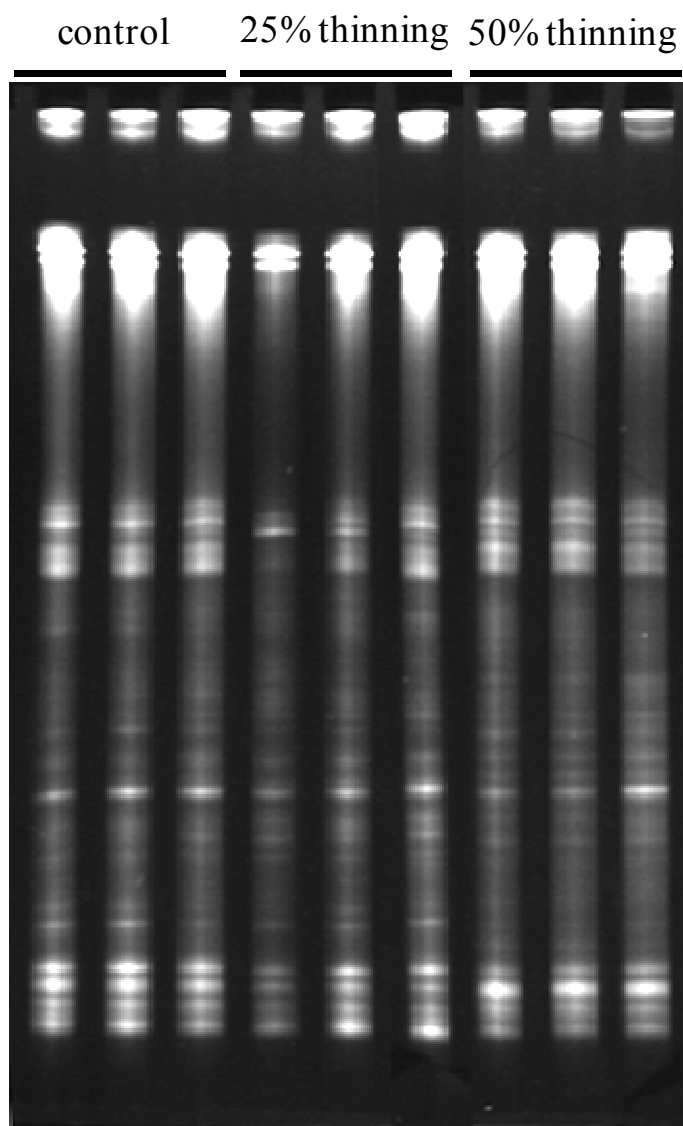
Fig. 10. Counts of soil bacteria, actinomycetes and fungi among two thinning treatments and control in a *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun from Jan-08 to Aug-09. Different letters above bars represented significantly different between stand types. Bars without letter represented the difference was not significant.



圖十一、人倫林道柳杉林 2008 年 1 月(A)、2008 年 4 月(B)、2008 年 8 月(C)與 2009 年 8 月(D)東向坡與北向坡土壤放線菌菌數。

Fig. 11. Population of soil actinomycetes which survey in Jan-08 (A), Apr-08 (B), Aug-08 (C) and Aug-09 (D) of east and north aspect in *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun.

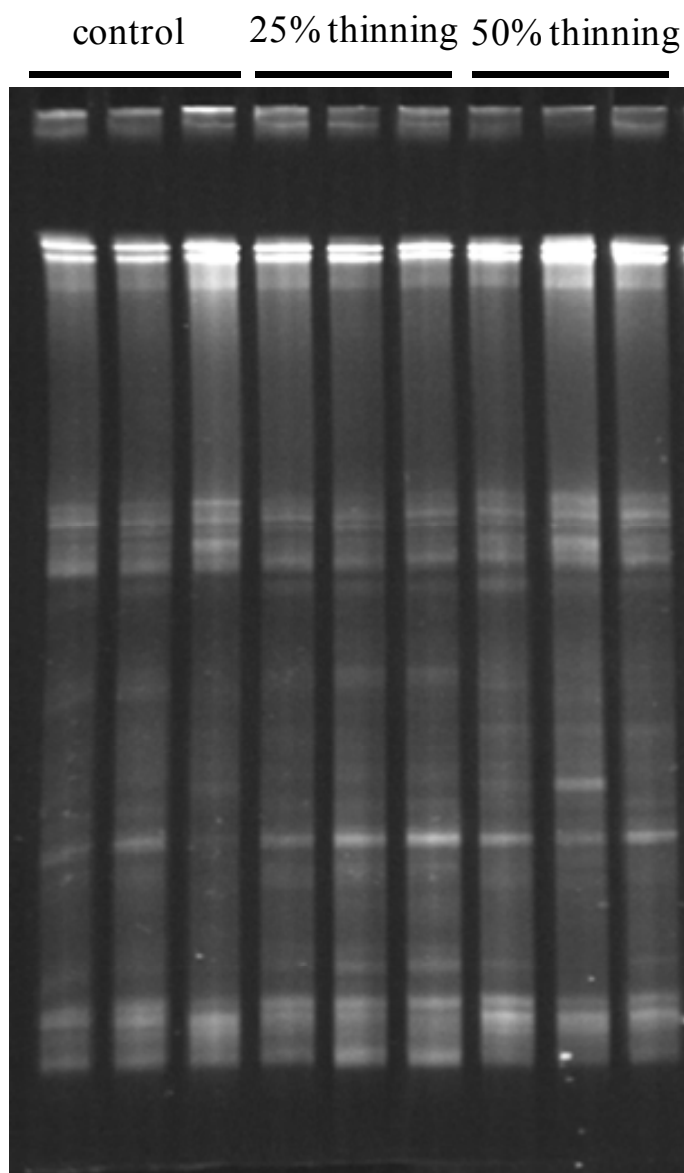
(A) Oct-08



(接下頁)

(接上頁)

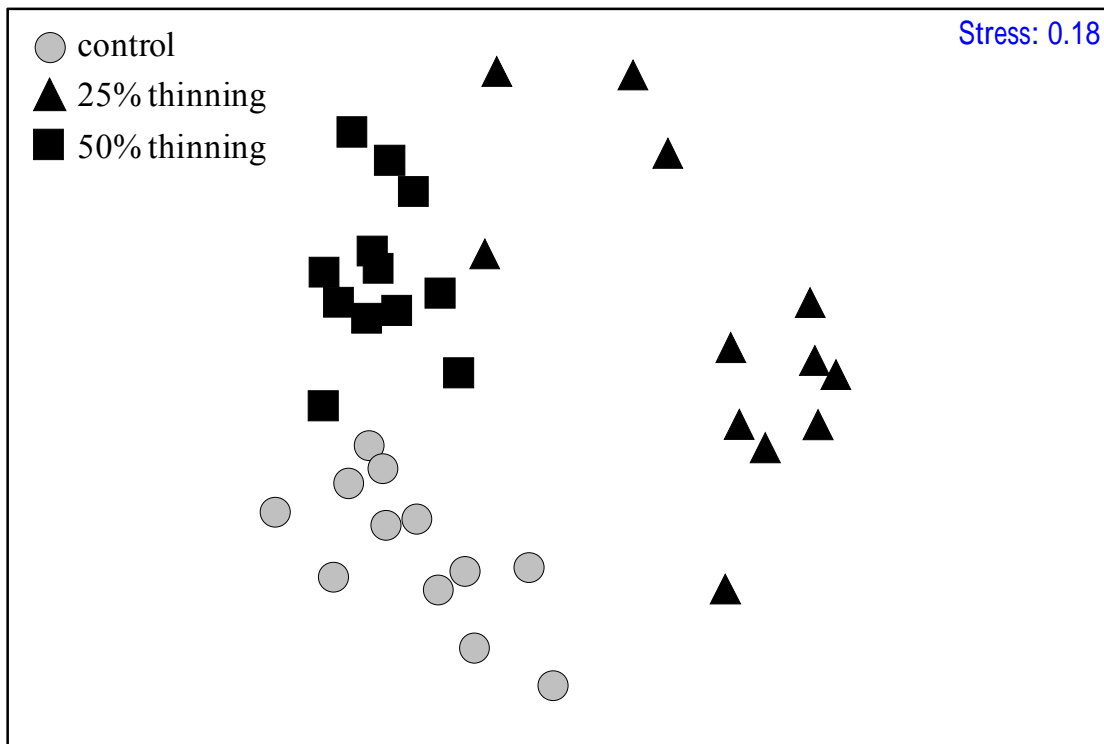
(B) Oct-09



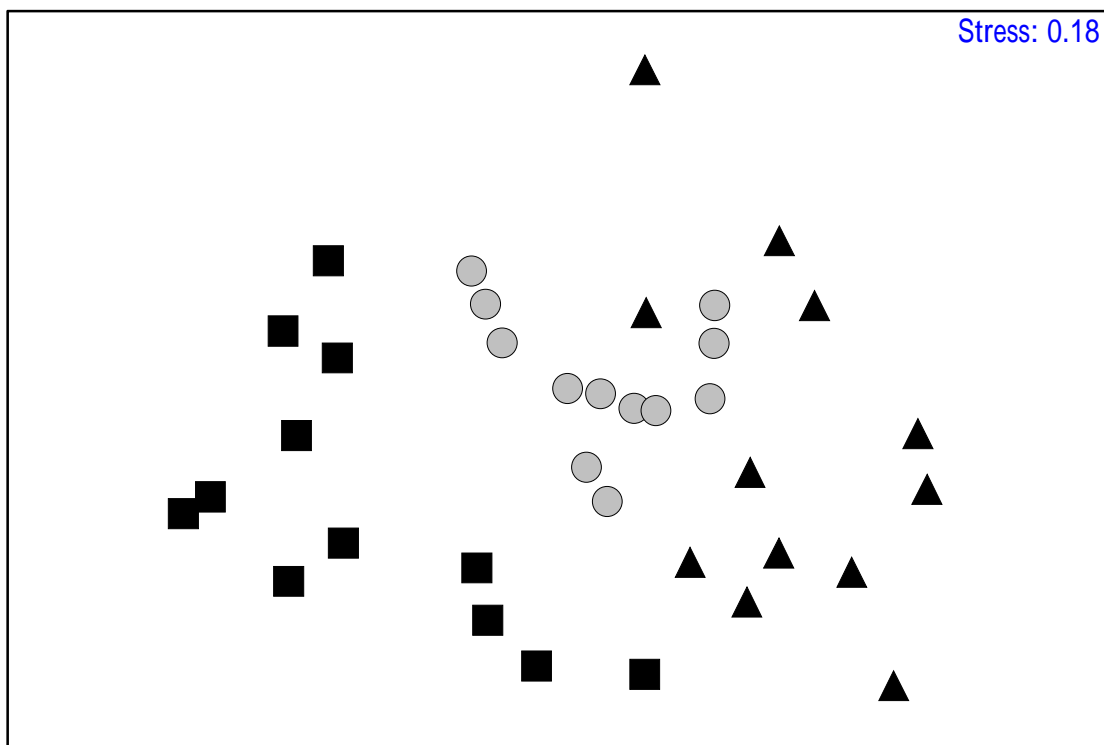
圖十二、2008年10月(A)與2009年10月(B)人倫林道柳杉林兩種疏伐強度處理與控制組樣區的土壤細菌變性梯度膠體電泳指紋圖譜。

Fig. 12. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) fingerprinting of soil bacteria of two thinning treatments and control of *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun.

(A) Oct-08



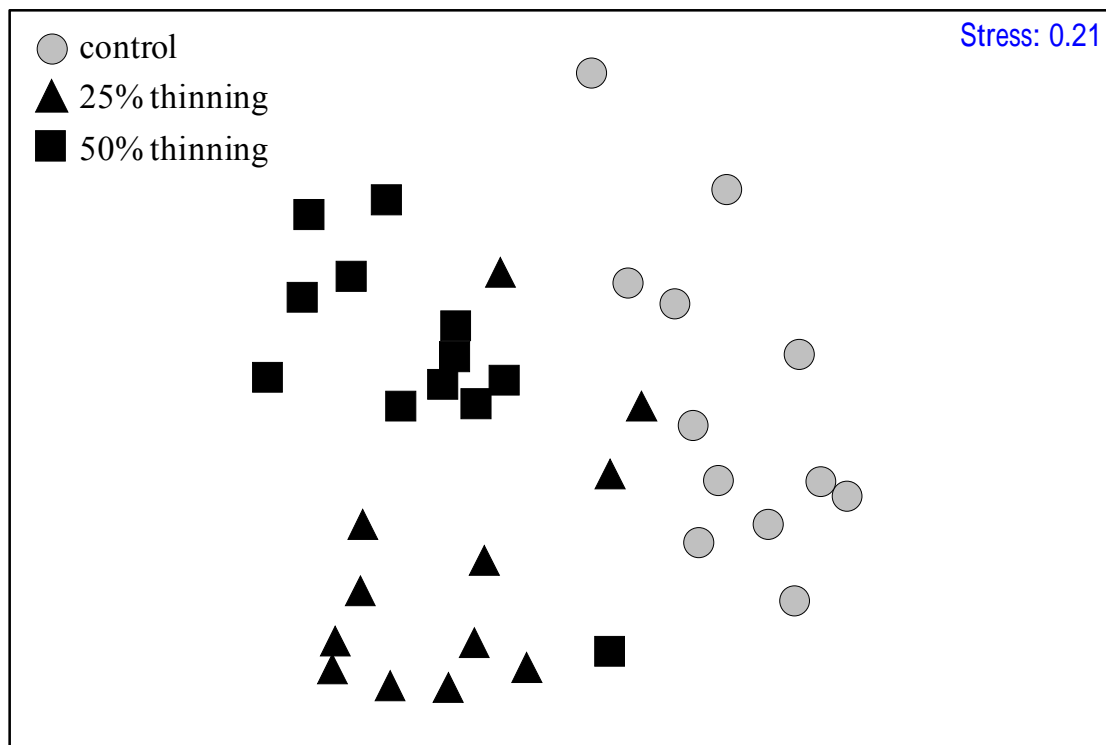
(B) Jan-09



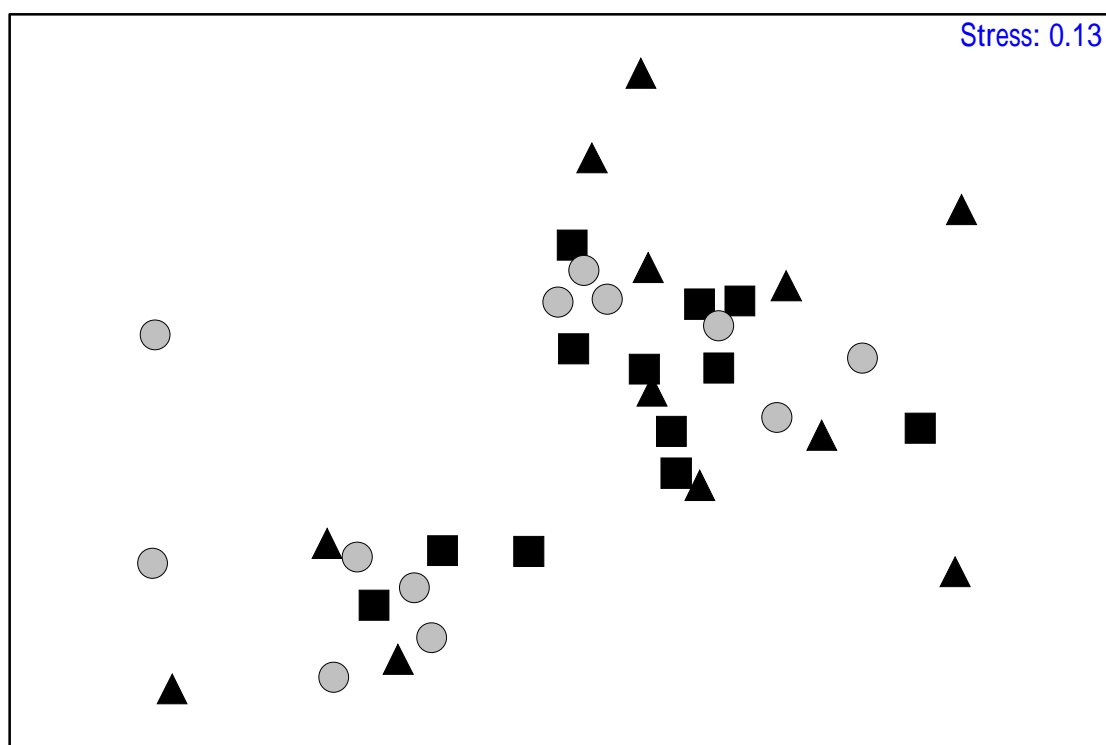
(接下頁)

(C) Mar-09

(接上頁)



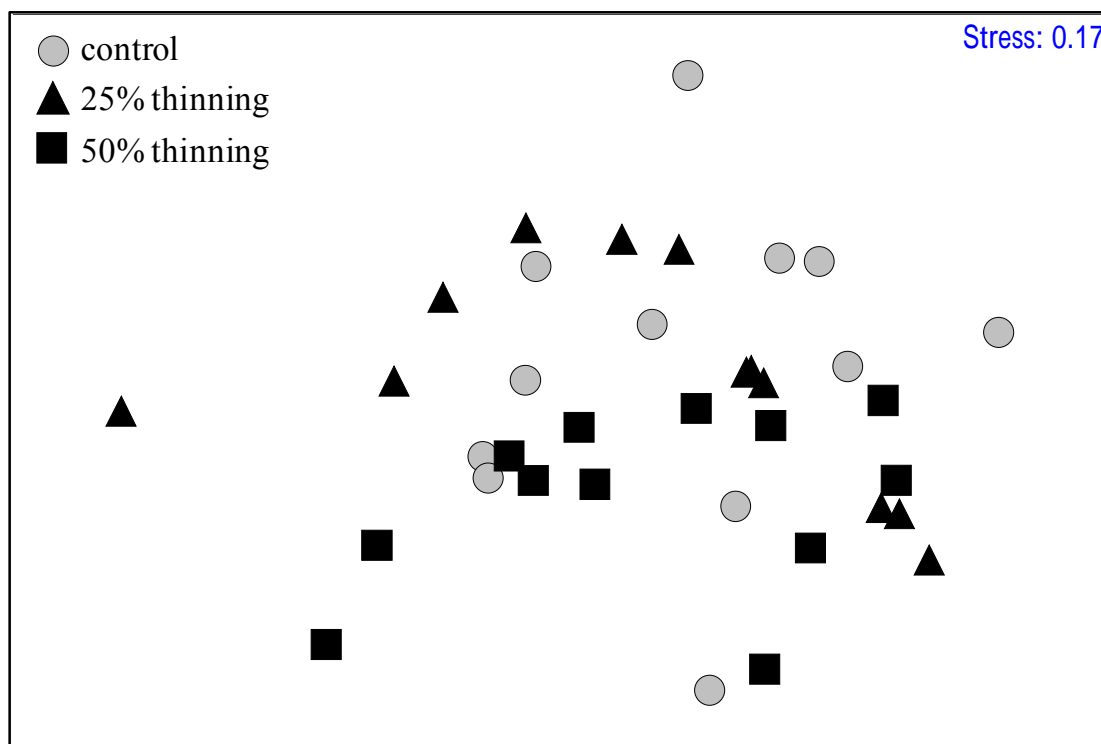
(D) Aug-09



(接下頁)

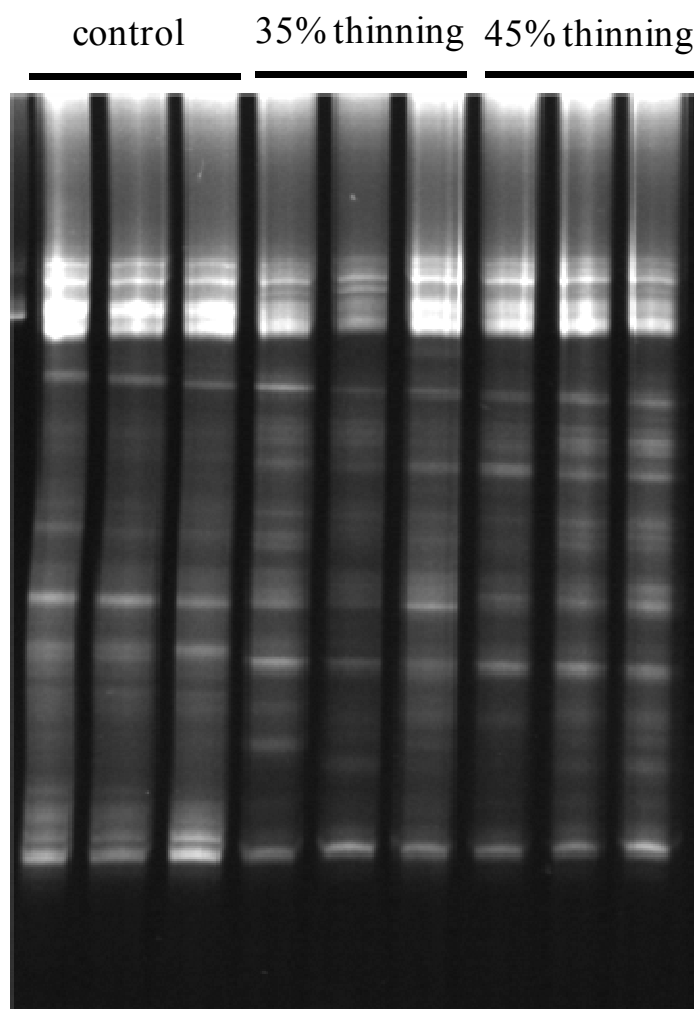
(E) Oct-09

(接上頁)



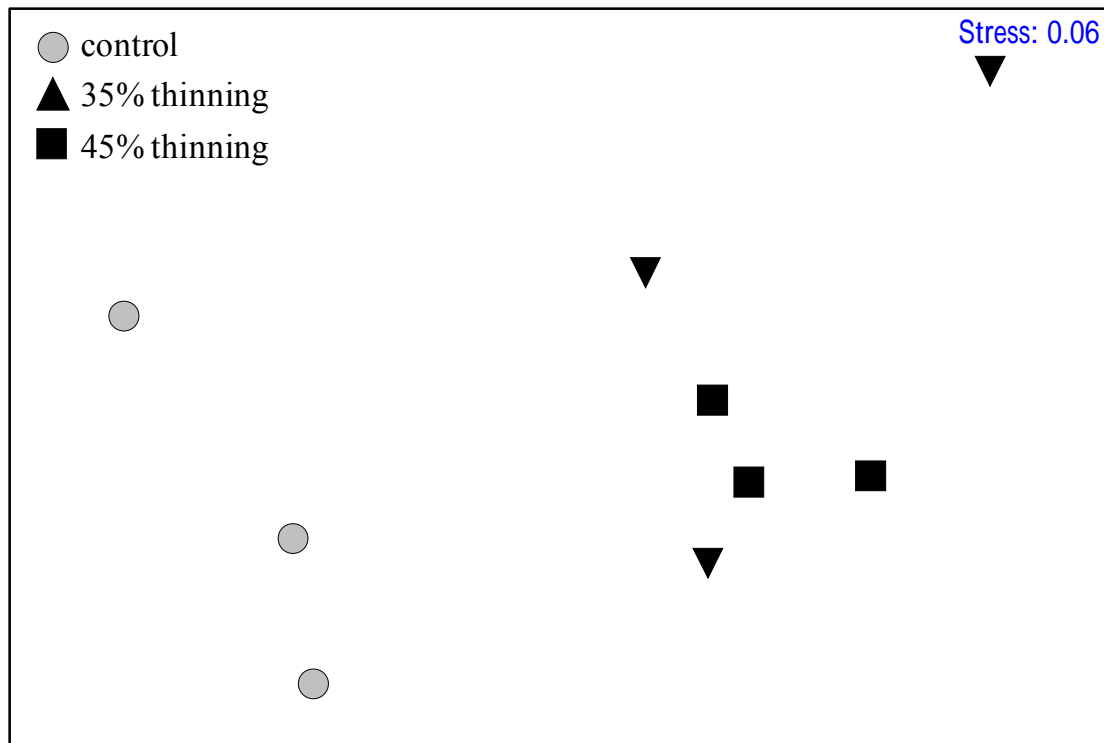
圖十三、2008年10月(A)、2009年1月(B)、2009年3月(C)、2009年8月(D)與2009年10月(E)人倫林道柳杉林兩種疏伐處理與控制組的土壤細菌群落經變性梯度膠體電泳(DGGE)分析後，所得之MDS圖形。

Fig. 13. Multidimensional scaling of soil bacterial communities of two thinning treatments and control of *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun based on DGGE profiles in Oct-08 (A), Jan-09 (B), Mar-09 (C), Aug-09 (D) and Oct-09 (E).



圖十四、大雪山紅檜林兩種疏伐強度處理與控制組樣區的土壤細菌變性梯度膠體電泳指紋圖譜。

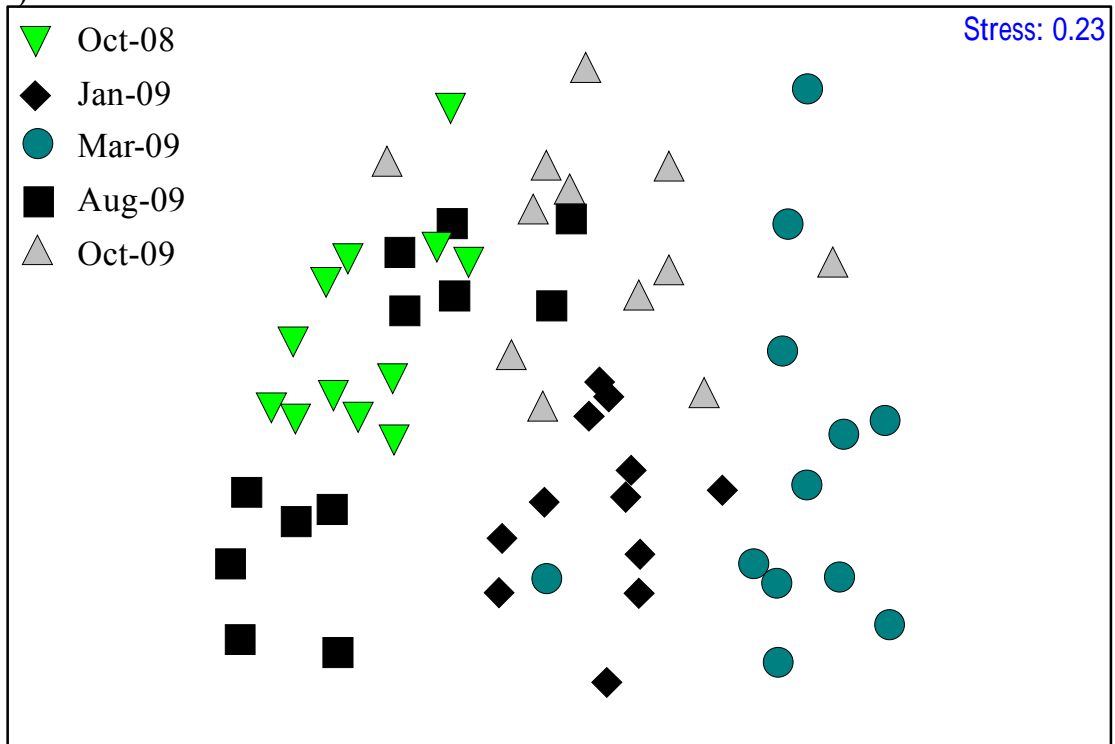
Fig. 14. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) fingerprinting of soil bacteria of two thinning treatments and control of *Chamaecyparis formosensis* plantation of Da-Sueh Shan.



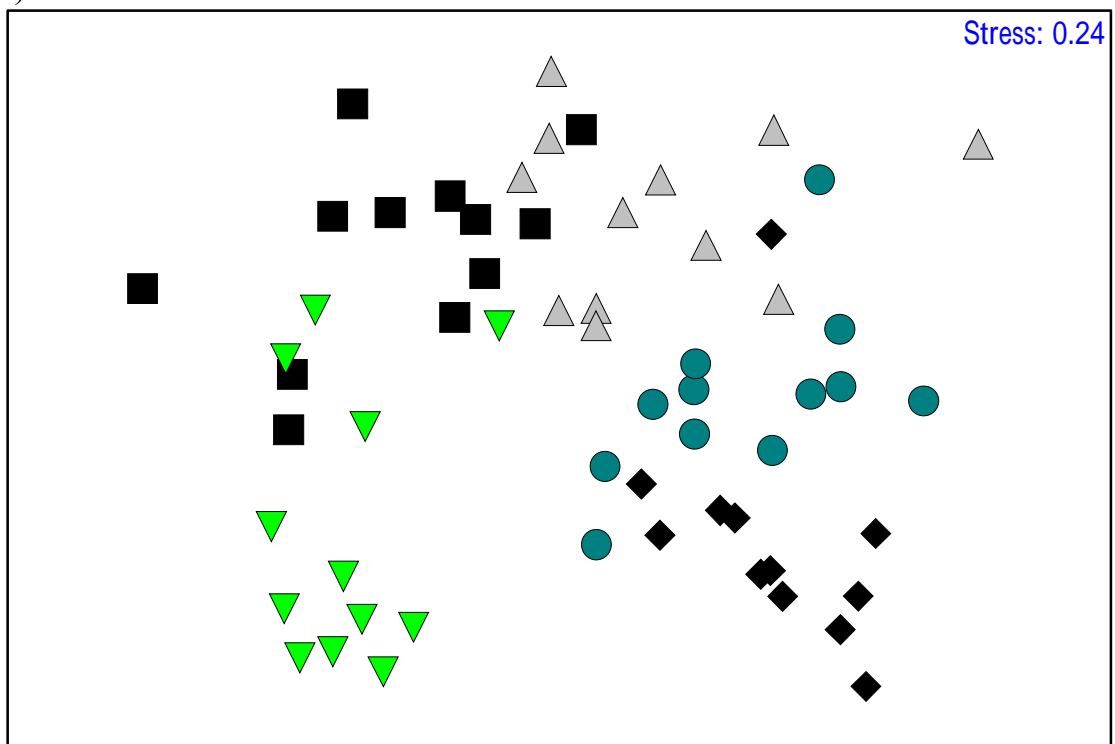
圖十五、大雪山紅檜林兩種疏伐處理與控制組的土壤細菌群落經變性梯度膠體電泳(DGGE)分析後，所得之 MDS 圖形。

Fig. 15. Multidimensional scaling of soil bacterial communities under two thinning treatments and control of *Chamaecyparis formosensis* plantation of Da-Sueh Shan based on DGGE profiles.

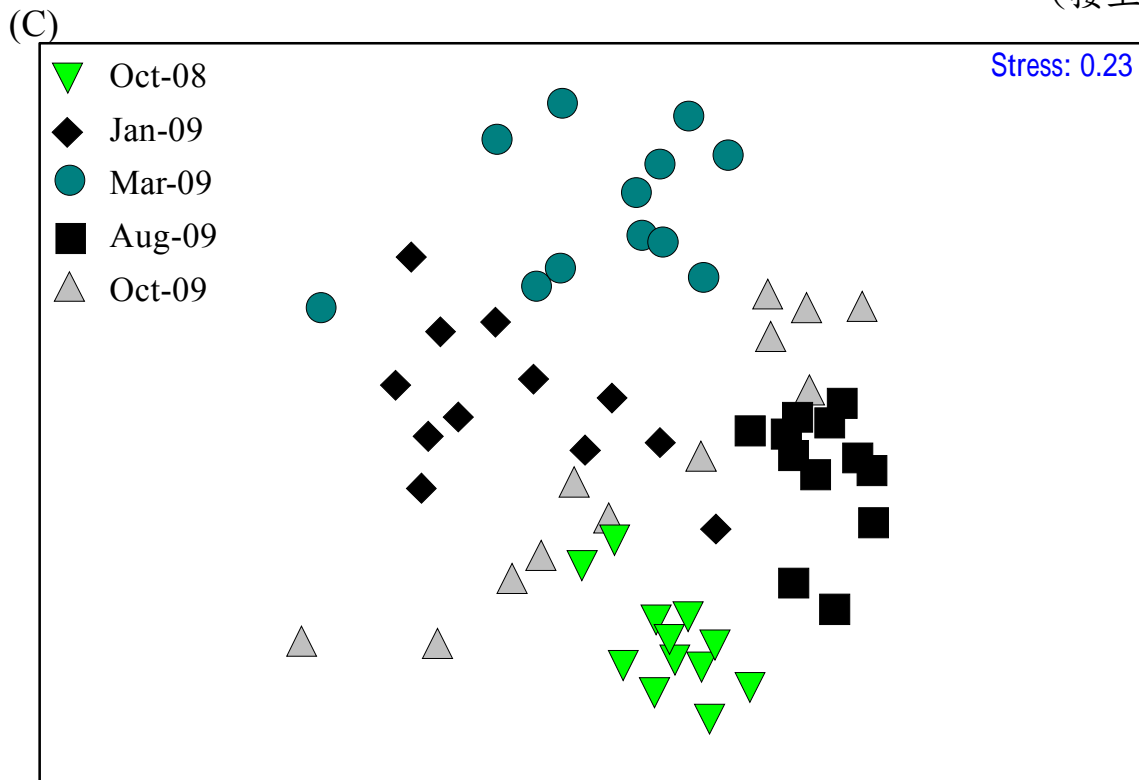
(A)



(B)

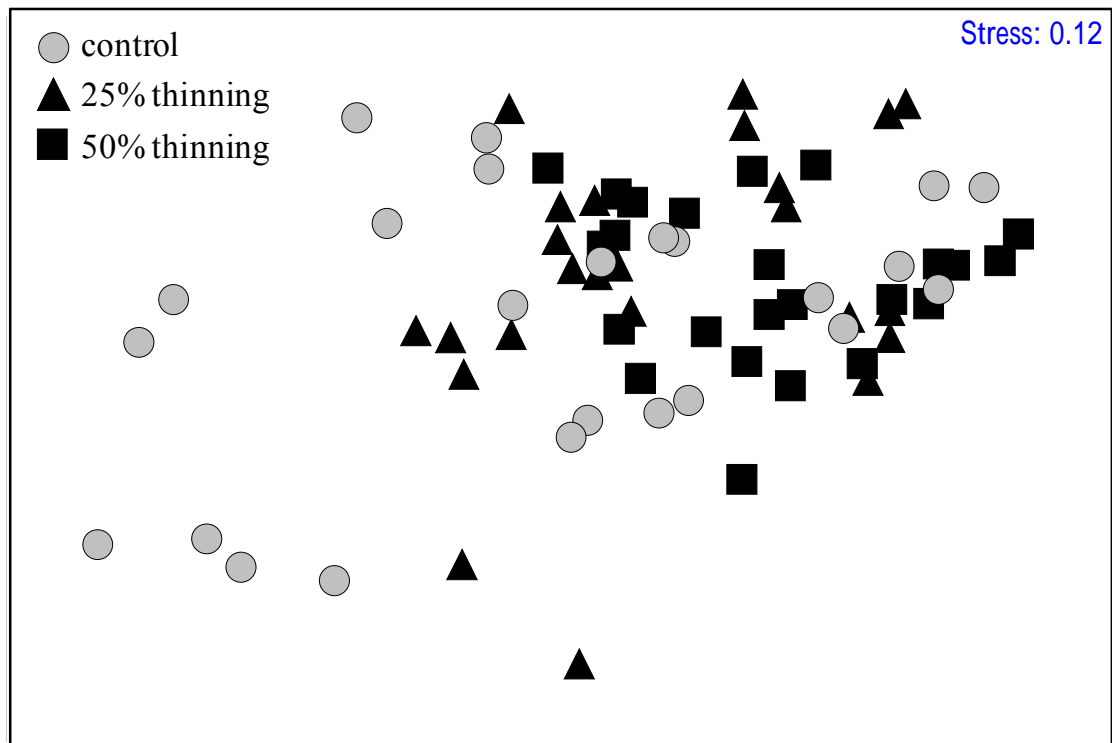


(接下頁)



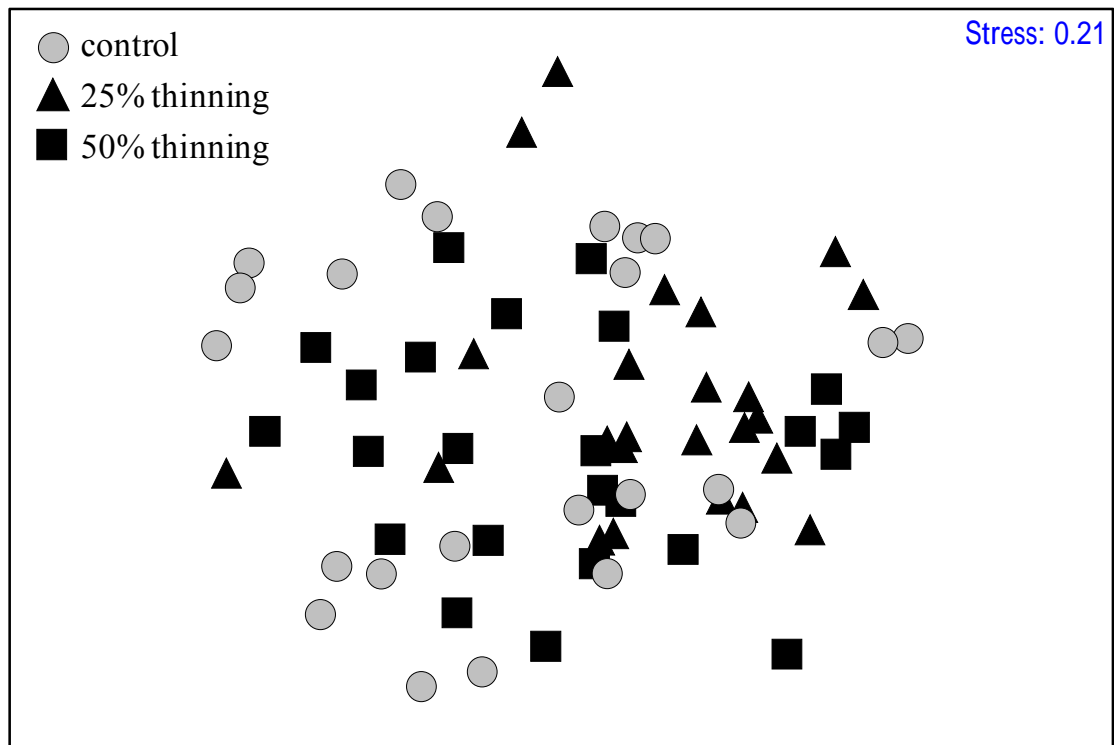
圖十六、人倫林道柳杉林未疏伐樣區(A)、25%疏伐樣區(B) 與 50%疏伐樣區(C) 土壤經變性梯度膠體電泳(DGGE)分析，所得細菌群落季節性變化之 MDS 圖形。

Fig. 16. Multidimensional scaling of seasonal variation of soil bacterial communities under unthinned (A), 25% thinning (B) and 50% thinning (C) plots of *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun based on DGGE profiles.



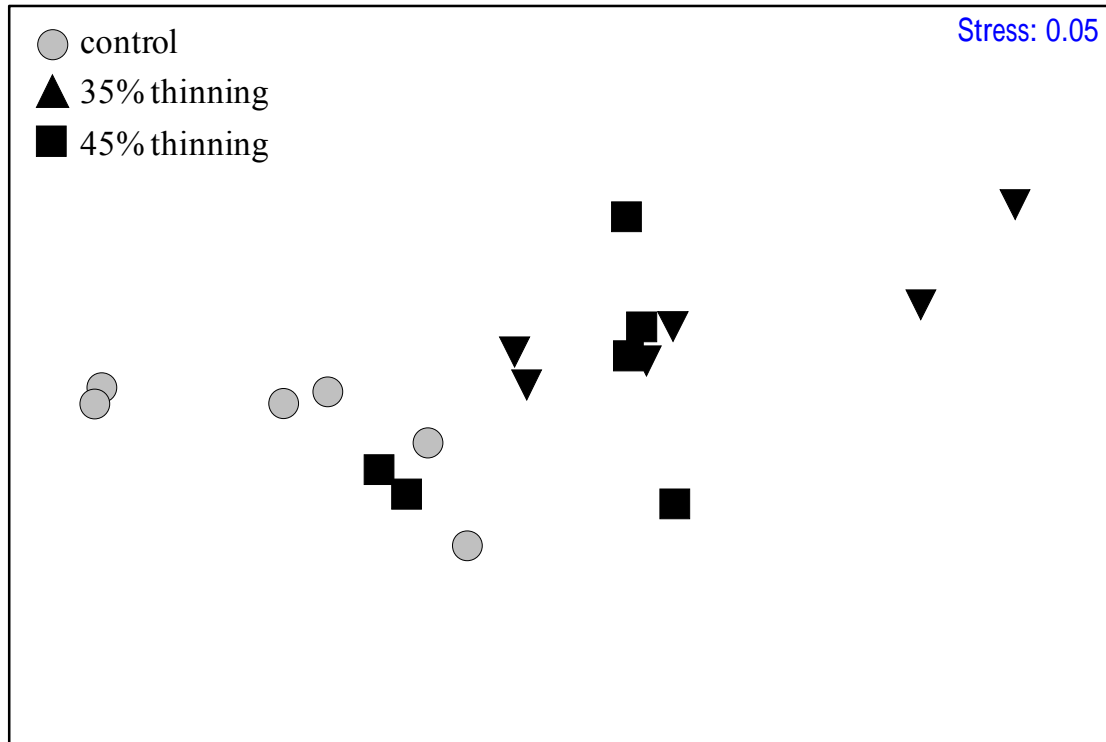
圖十七、人倫林道柳杉林疏伐後第一年，兩種疏伐處理與控制組土壤微生物群落層級生理譜(CLPP)之 MDS 圖形。

Fig. 17. Multidimensional scaling of soil microorganisms under two thinning treatments and control in the first year after thinning in *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun based on CLPP.



圖十八、人倫林道柳杉林疏伐後第二年，兩種疏伐處理與控制組土壤微生物群落層級生理譜(CLPP)之 MDS 圖形。

Fig. 18. Multidimensional scaling of soil microorganisms under two thinning treatments and control in the second year after thinning in *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun based on CLPP.



圖十九、大雪山紅檜林疏伐後第四年，兩種疏伐處理與控制組土壤微生物群落層級生理譜(CLPP)之 MDS 圖形。

Fig. 19. Multidimensional scaling of soil microorganisms under two thinning treatments and control in the fourth year after thinning in *Chamaecyparis formosensis* plantation of Da-Sueh Shan based on CLPP.

附錄一、培養基配製

Appendix 1. Medium preparation

1. 營養瓊脂培養基 (Nutrient agar) (Cho et al., 2008)

牛肉抽出物 (beef extract, Difco, USA)	3 g
蛋白朊 (peptone, Difco, USA)	5 g
洋菜 (agar)	15 g

以蒸餾水補至一公升體積，加熱溶解後以 121°C 滅菌 15 分鐘，pH 值 6.8 ± 0.1 ，待培養基冷卻至約 50°C，倒入無菌培養皿，室溫下凝固。

2. 澱粉-酪蛋白瓊脂培養基 (Starch-casein medium) (Mackay, 1977)

澱粉 (starch, Shimakyu's Pure Chemicals, Japan)	10	g
硝酸鉀 (KNO ₃)	2	g
氯化鈉 (NaCl)	2	g
七水硫酸鎂 (MgSO ₄ · 7H ₂ O, Sigma, USA)	0.5	g
酪蛋白 (casein)	0.3	g
洋菜 (agar)	15	g
環己亞胺 (cycloheximide, Sigma, USA)	100	mg

以蒸餾水補至一公升體積，pH 值以 KOH 校正至 6.8 ± 0.1 ，加熱溶解後以 121°C 滅菌 15 分鐘，待培養基冷卻至約 55°C，添加無菌的環己亞胺混合均勻，使環己亞胺最終濃度為 100 µg/ml，待培養基冷卻後倒入無菌培養皿中，室溫下凝固。

3. 酸化玫瑰紅瓊脂培養基 (Rose bengal agar) (Cho et al., 2008)

葡萄糖 (glucose, Shimakyu's Pure Chemicals, Japan)	10	g
蛋白朊 (peptone, Difco, USA)	5	g
磷酸氫二鉀 (K_2HPO_4)	1	g
七水硫酸鎂 ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$, Sigma, USA)	0.986	g
玫瑰紅 (rose Bengal, Matheson, USA)	0.033	g
洋菜 (agar)	15	g

以蒸餾水補至一公升體積，使用氯化氫(HCl)調整 pH 值為 5.0 ± 0.1 。加熱溶解後以 121°C 滅菌 15 分鐘，待培養基冷卻至約 50°C ，倒入無菌培養皿，室溫下凝固。

4. Mandels-Reese medium (Cho et al., 2008)

羧甲基纖維 (carboxymethyl cellulose, Sigma, USA)	10	g
尿素 (urea)	0.3	g
蛋白朊 (peptone, Difco, USA)	1	g
硫酸銨 ((NH ₄) ₂ SO ₄)	1.4	g
磷酸二氫鉀 (KH ₂ PO ₄)	2	g
氯化鈣 (CaCl ₂ · 2H ₂ O)	0.46	g
硫酸鎂 (MgSO ₄ · 7H ₂ O)	0.3	g
硫酸鐵 (FeSO ₄ · 7H ₂ O)	5	mg
硫酸錳 (MnSO ₄ · H ₂ O)	1.6	mg
硫酸鋅 (ZnSO ₄ · 7H ₂ O)	1.4	mg
氯化鈷 (CoCl ₂ · 6H ₂ O)	2	mg
洋菜 (agar)	15	g

以蒸餾水補至一公升體積，以 KOH 校正 pH 值至 7.0 ± 0.1 ，加熱溶解後以 121°C 滅菌 15 分鐘，待培養基冷卻至約 50°C，以搖動培養基的方使羧甲基纖維素均勻分佈，倒入無菌培養皿，室溫下凝固。

5. 無氮甘露醇培養基 (Nitrogen free mannitol agar) (Johnson and Curl, 1972)

甘露醇 (mannitol, Sigma, USA)	10	g
氯化鎂 ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	4.27	g
丙酸鈣 (calcium propionate, $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4\text{Ca} \cdot \text{H}_2\text{O}$)	1.32	g
磷酸鎂 (magnesium phosphate, $(\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.27	g
洋菜 (agar)	15	g

以蒸餾水補至一公升體積，加熱溶解後以 121°C 滅菌 15 分鐘，待培養基冷卻至約 50°C ，倒入無菌培養皿，室溫下凝固。

6. 磷酸鈣蔗糖基礎鹽類培養基 (Ca-P amended sucrose-basal salt medium) (Chuang et al., 2007)

蔗糖 (sucrose, Sigma, USA)	10	g
磷酸鈣 ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)	3	g
硝酸銨 (NH_4NO_3)	0.27	g
氯化鉀 (KCl)	0.2	g
七水硫酸鎂 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Sigma, USA)	0.1	g
酵母抽出物 (yeast extract, Difco, USA)	0.1	g
硫酸鐵 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1	mg
硫酸錳 ($\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1	mg
聚氧乙烯山梨醇單油酸酯 (Tween 80, Sigma, USA)	0.5	%
洋菜 (agar)	15	g
鏈黴素 (streptomycin, Sigma, USA)	100	mg

以蒸餾水補至一公升體積，加熱溶解後以 121°C 滅菌 15 分鐘，待培養基冷卻至約 55 °C，添加無菌的鏈黴素混合均勻，鏈黴素最終濃度為 100 µg/ml，倒入無菌培養皿中，室溫下凝固。

附錄二、抗生素的製備

Appendix 2. Antibiotic preparation

1. 環己亞胺 (cycloheximide)

先以少量的酒精完全溶解 0.5 g 環己亞胺後，再補蒸餾水到50 mL。以孔徑0.2 μm 的濾膜 (0.2 μm Supor[®] Membrane, Pall, USA) 進行滅菌過濾，得到無菌的環己亞胺溶液(10 mg / ml)。

2. 鏈黴素 (streptomycin)

以蒸餾水50 mL完全溶解 0.5 g 鏈黴素後。以孔徑0.2 μm 的濾膜 (0.2 μm Supor[®] Membrane, Pall, USA) 進行滅菌過濾，得到無菌的鏈黴素溶液(10 mg / ml)。

過濾滅菌後的抗生素保存於4°C下，用以添加於培養基中抑制細菌(鏈黴素)或真菌的生長(環己亞胺)。於一個月內使用。

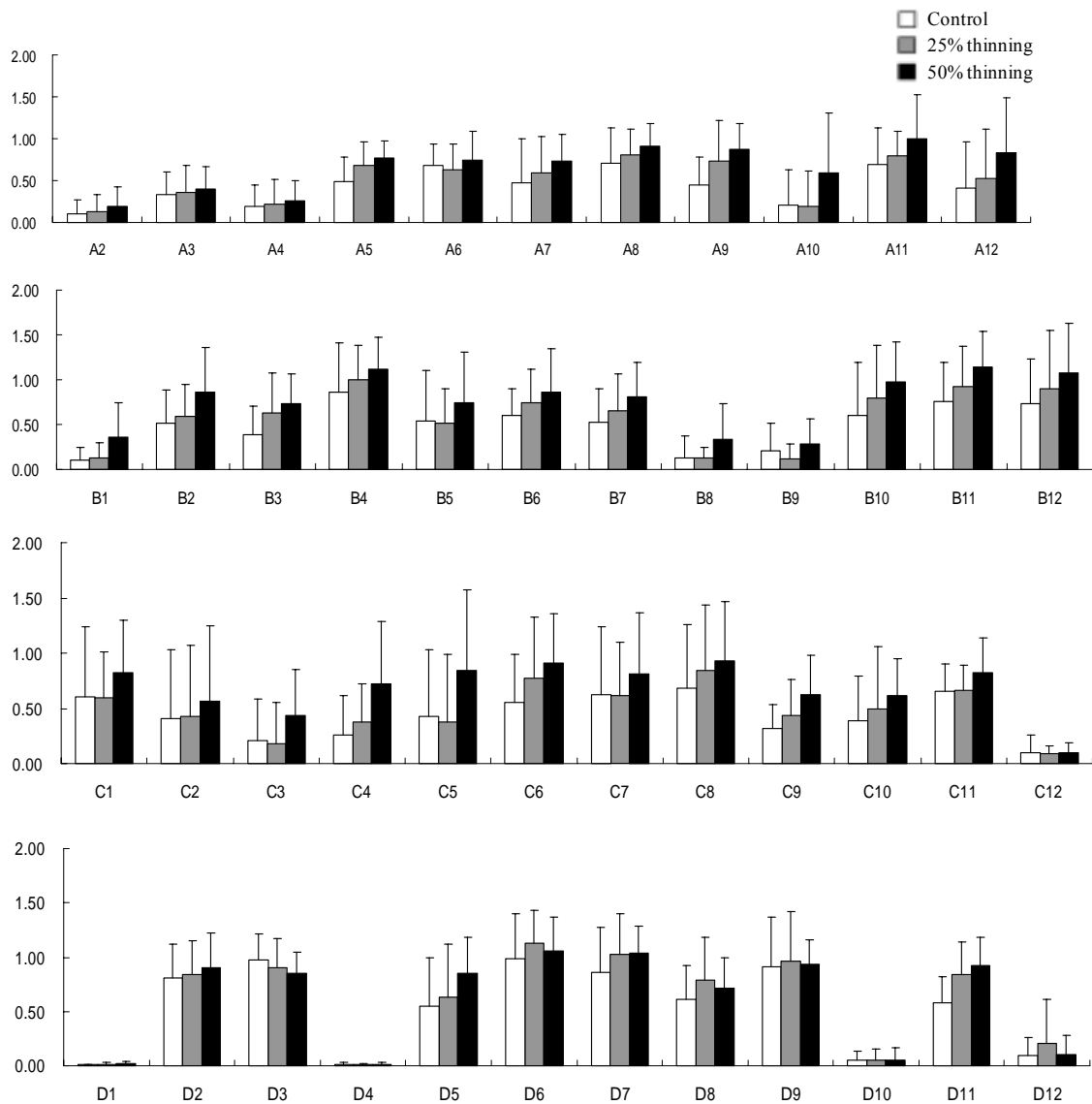
附錄三、Biolog GN2 MicroPlate 上 95 種碳源種類。

Appendix 3. Ninety-five carbon species on Biolog GN2 MicroPlate

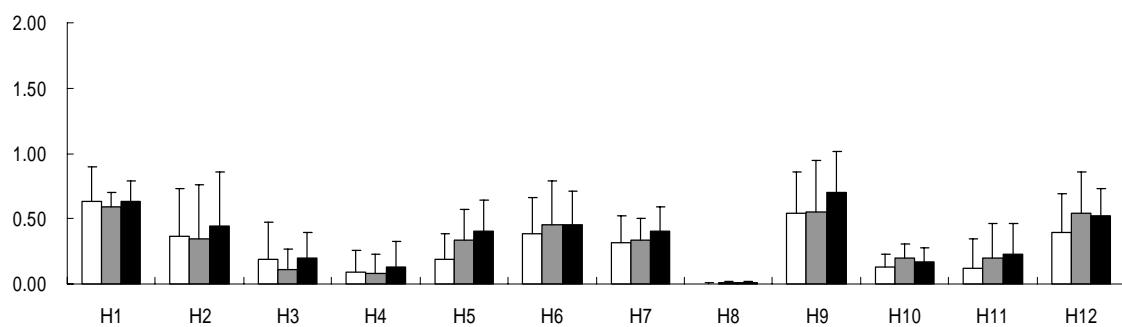
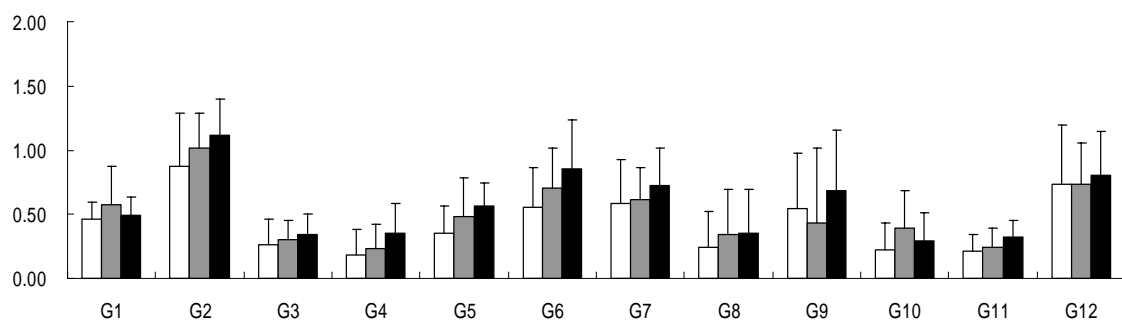
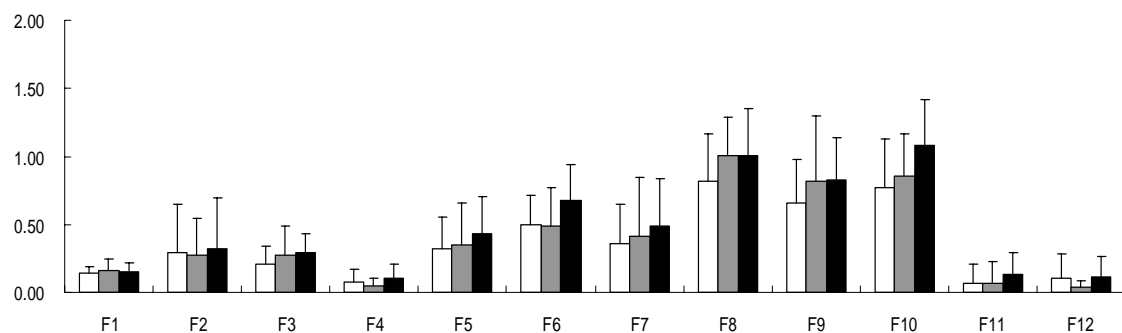
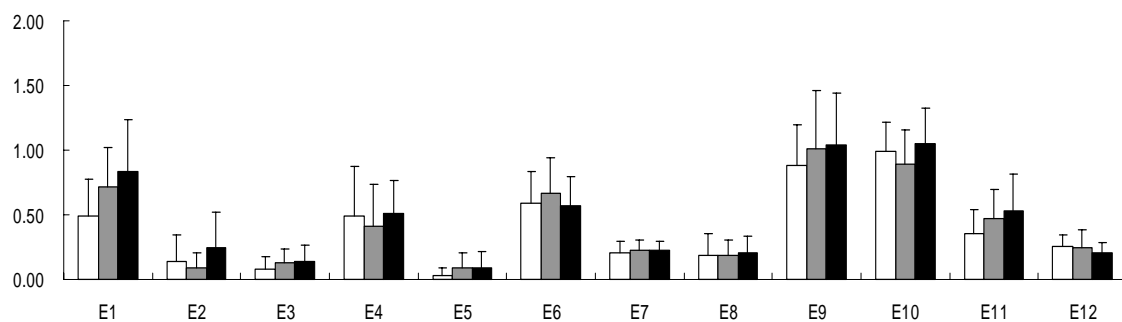
A1 Water	A2 α -Cyclodextrin	A3 Dextrin	A4 Glycogen	A5 Tween 40	A6 Tween 80	A7 N-Acetyl-D- Galactosamine	A8 N-Acetyl-D- Glucosamine	A9 Adonitol	A10 L-Arabinose	A11 D-Arabitol	A12 D-Cellobiose
B1 i-Erythritol	B2 D-Fructose	B3 L-Fucose	B4 D-Galactose	B5 Gentiobiose	B6 α -D-Glucose	B7 α -Inositol	B8 α -D-Lactose	B9 Lactulose	B10 Maltose	B11 D-Mannitol	B12 D-Mannose
C1 D-Melibiose	C2 β -Methyl- D-Glucoside	C3 D- Psicose	C4 D-Raffinose	C5 L-Rhamnose	C6 D-Sorbitol	C7 Sucrose	C8 D-Trehalose	C9 Turannose	C10 Xylitol	C11 Pyruvic Acid Methyl Ester	C12 Succinic Acid Mono-Methyl- Ester
D1 Acetic Acid	D2 Cis-Aconitic Acid	D3 Citric Acid	D4 Formic Acid	D5 D-Galactonic Acid Lactone	D6 D-Galactaronic Acid	D7 D-Gluconic Acid	D8 D-Glucosaminic Acid	D9 D-Glucuronic Acid	D10 α - Hydroxybutyric Acid	D11 β - Hydroxybutyric Acid	D12 γ - Hydroxybutyric Acid
E1 p -Hydroxy Phenylacetic Acid	E2 Itaconic Acid	E3 α -Keto Butyric Acid	E4 α -Keto Glutaric Acid	E5 α -Keto Valeric Acid	E6 D,L-Lactic Acid	E7 Malonic Acid	E8 Propionic Acid	E9 Quinic Acid	E10 D-Saccharic Acid	E11 Sebacic Acid	E12 Succinic Acid
F1 Bromosuccinic Acid	F2 Succinamic Acid	F3 Glucuronamide	F4 L-Alaninamide	F5 D-Alanine	F6 L-Alanine	F7 L-Alanyl- glycine	F8 L-Asparagine	F9 L-Aspartic Acid	F10 L-Glutamic Acid	F11 Glycyl-L- Aspartic Acid	F12 Glycyl-L- Glutamic Acid
G1 L-Histidine	G2 Hydroxy-L- Proline	G3 L-Leucine	G4 L-Ornithine	G5 L- Phenylalanine	G6 L-Proline	G7 L-Pyroglutamic Acid	G8 D-Serine	G9 L-Serine	G10 L-Threonine	G11 D,L-Carnitine	G12 γ -Amino Butyric Acid
H1 Urocanic Acid	H2 Inosine	H3 Uridine	H4 Thymidine	H5 Phenethyl- amine	H6 Putrescine	H7 2-Aminoethanol	H8 2,3-Butanediol	H9 Glycerol	H10 D,L- α -Glycerol Phosphate	H11 α -D-Glucose- 1-Phosphate	H12 D-Glucose- 6-Phosphate

附錄四、以 Biolog GN2 Microplate 分析人倫林道柳杉疏伐後第一年土壤微生物群落層級生理譜，圖中為兩種疏伐處理與控制組土壤樣本分別對 95 種碳源的平均利用反應，X 軸為 GN2 Microplate 上的碳源代號，Y 軸為測量之吸光值。

Appendix 4. Average levels of utilization of 95 carbon species by soil microorganism in the 1st year after thinning of *Cryptomeria japonica* plantation of Renlun were presented according to control and two thinning treatments. The X axes represent carbon species on GN2 Microplate. The Y axes represent the light absorbance of carbon species.

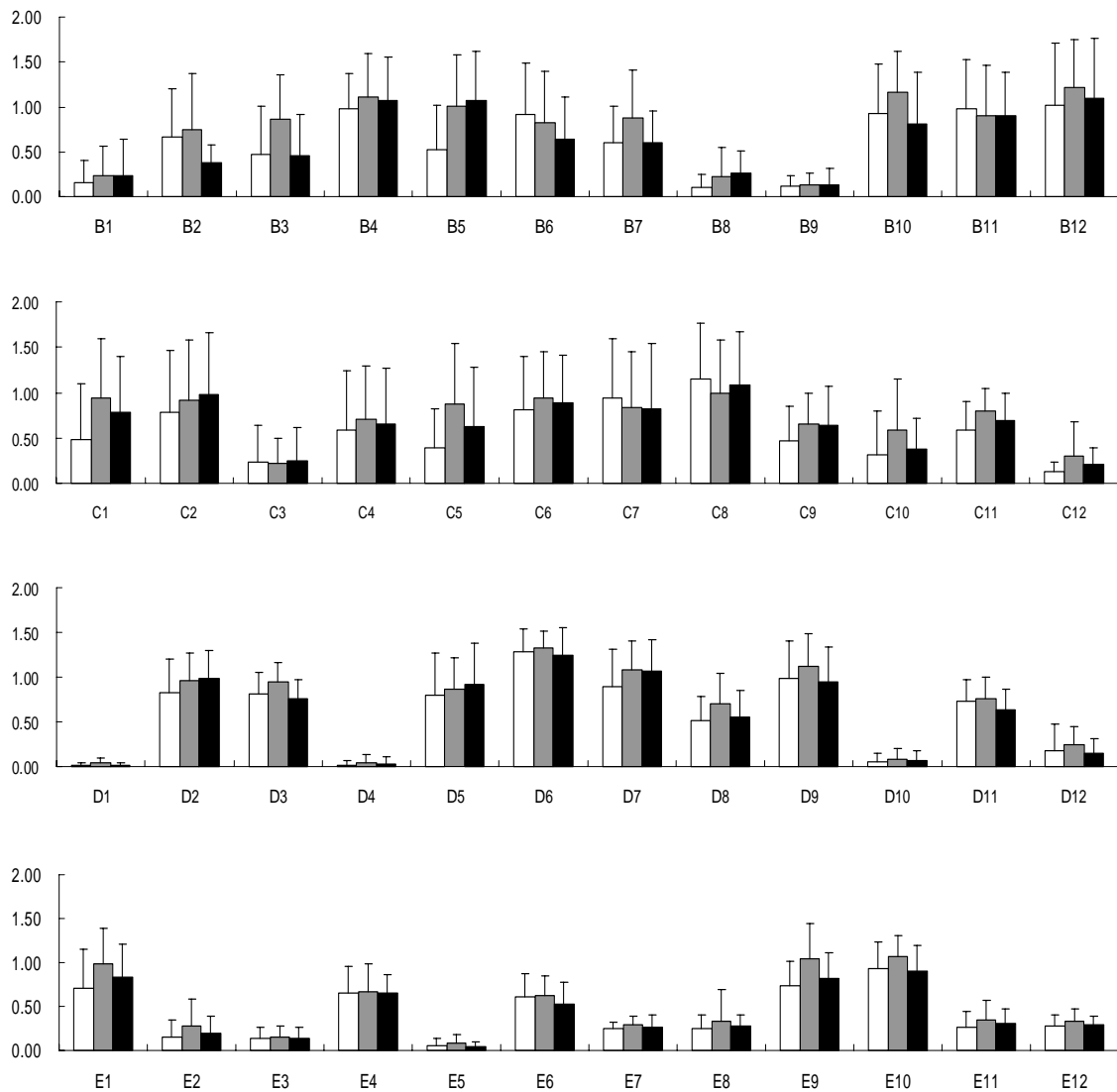


(接下頁)



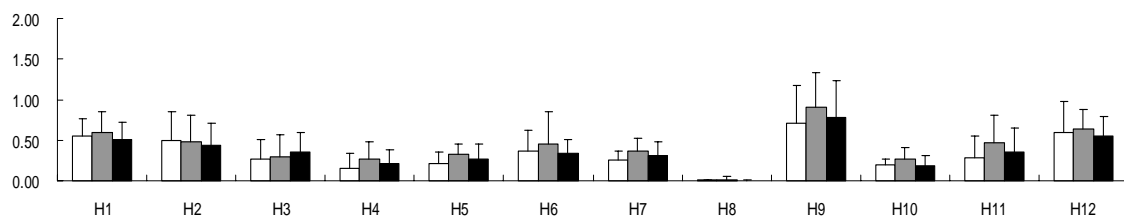
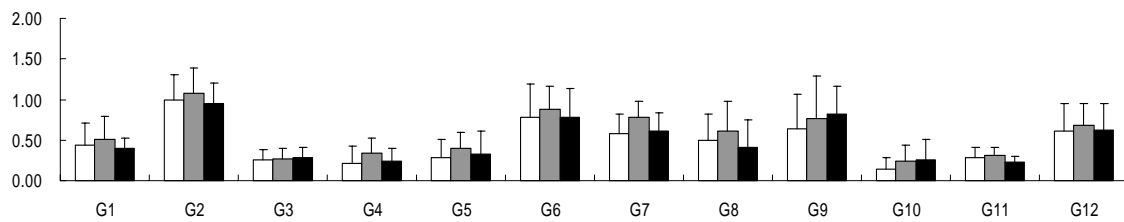
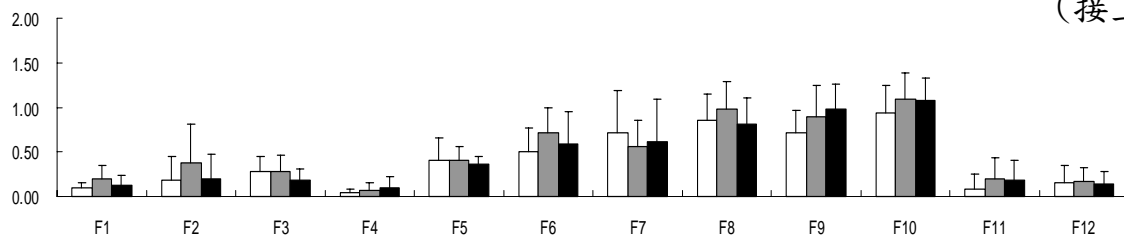
附錄五、以 Biolog GN2 Microplate 分析人倫林道柳杉疏伐後第二年土壤微生物群落層級生理譜，圖中為兩種疏伐處理與控制組土壤樣本分別對 95 種碳源的平均利用反應，X 軸為 GN2 Microplate 上的碳源代號，Y 軸為測量之吸光值。

Appendix 5. Average levels of utilization of 95 carbon species by soil microorganism in the 2nd year after thinning of *Cryptomerica japonica* plantation of Renlun were presented according to control and two thinning treatments. The X axes represent carbon species on GN2 Microplate. The Y axes represent the light absorbance of carbon species.



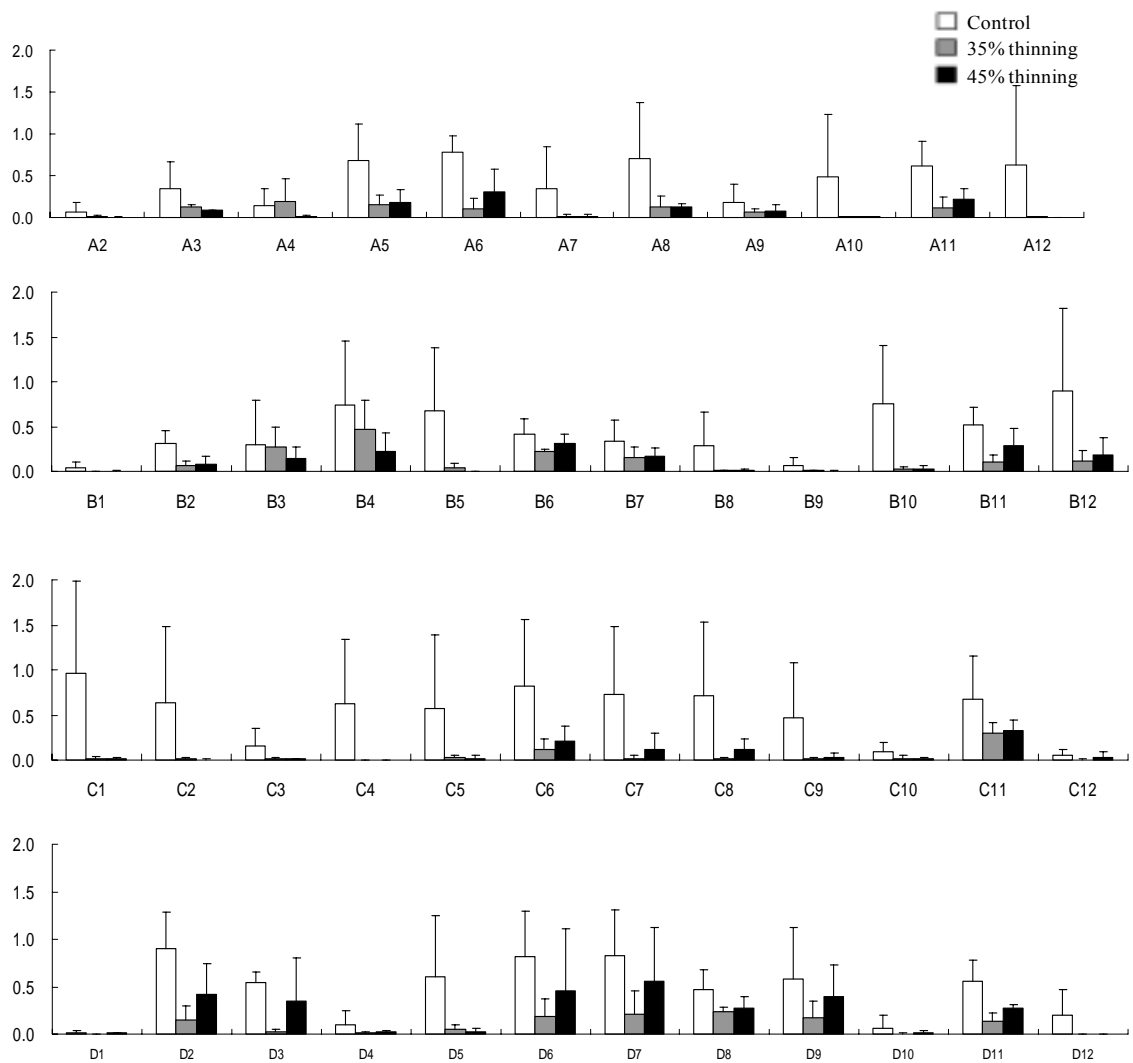
(接下頁)

(接上頁)



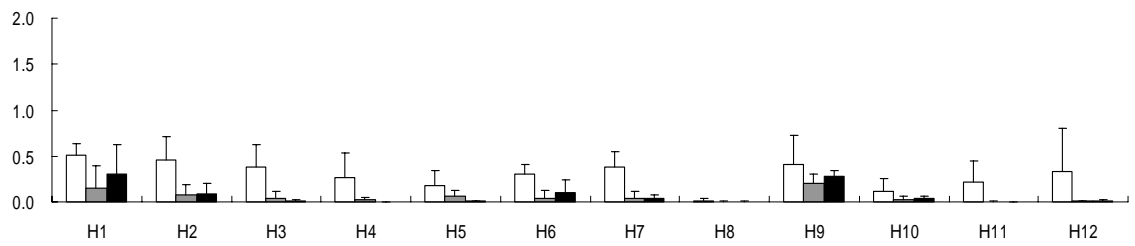
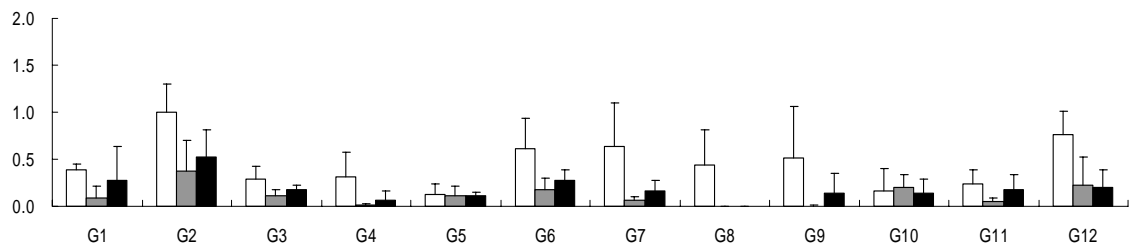
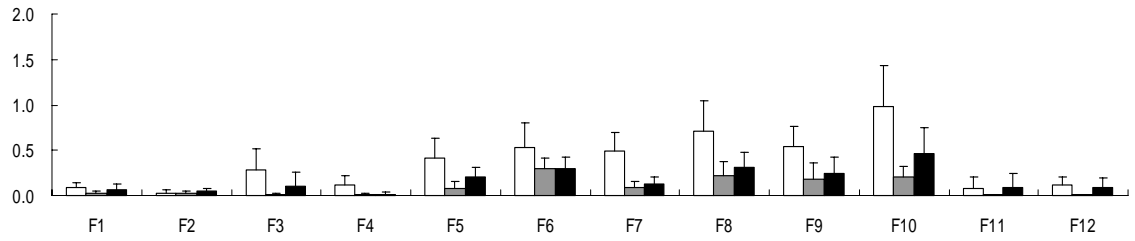
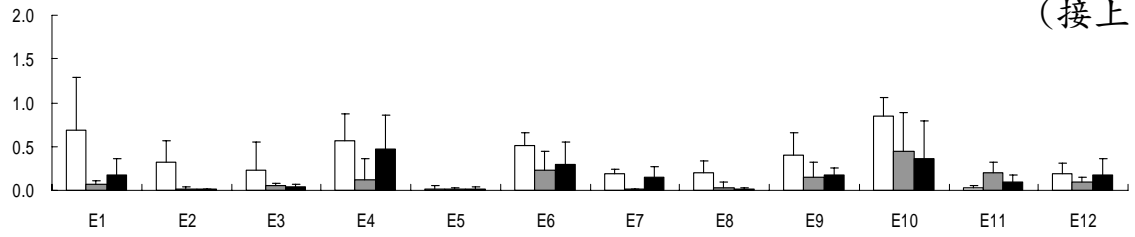
附錄六、以 Biolog GN2 Microplate 分析大雪山紅檜林疏伐後第四年土壤微生物群落層級生理譜，圖中為兩種疏伐處理與控制組土壤樣本分別對 95 種碳源的平均利用反應，X 軸為 GN2 Microplate 上的碳源代號，Y 軸為測量之吸光值。

Appendix 6. Average levels of utilization of 95 carbon species by soil microorganism in the 4th year after thinning of *Chamaecyparis formosensis* plantation of Da-Sueh Shan were presented according to control and two thinning treatments. The X axes represent carbon species on GN2 Microplate. The Y axes represent the light absorbance of carbon species.



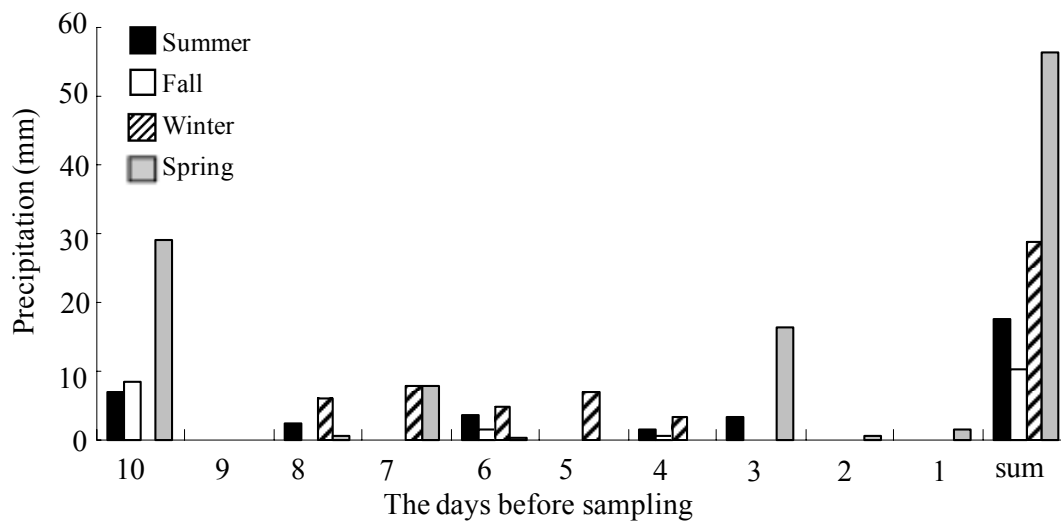
(接下頁)

(接上頁)



附錄七、塔塔加地區採樣前十天累積雨量圖(阿里山氣象站氣象資料, 2007-2008)。

Appendix 7. Accumulated precipitations of 10 days before sampling in Tatachia area.



個 人 資 料

姓名：陳文政

通訊：

E-mail - v60040@hotmail.com

手機 - 0928910797

學歷：

東海大學生命科學系 碩士畢業

東海大學生命科學系 學士畢業

研討會論文摘要：

王藝婷、陳文政、高明脩、林宛柔、汪碧涵 (2006) 不同林型與疏伐度森林中大型真菌的多樣性。中華民國真菌學會民國 95 年年會。

陳文政、高明脩、汪碧涵 (2007) 合歡山鐵杉與冷杉林的外生菌根菌。2007 大型真菌研討會。

Wang PH, Wang YT, Cheng WC, Lin WR, Chen MI, Kao MS and Guu TY (2006) Macrofungal diversity in the *Cryptomeriod japonica* plantations in Taiwan. The 8th international Mycological Congress. Queensland, Australia.

Chen WC, Wang MK, Wang PH (2009) Effects of vegetation type on soil fungal community and populations in a high elevation ecosystem in central Taiwan. Asian Mycological Congress & 11th International Marine and Freshwater Mycology Symposium. Taichung, Taiwan.