DOI: 10.5846/stxb201411242328

洪丕征,刘世荣,王晖,于浩龙.南亚热带红椎和格木人工幼龄林土壤微生物群落结构特征.生态学报,2016,36(14): - . Hong P Z, Liu S R, Wang H, Yu H L. Characteristics of soil microbial community structure in two young plantations of *Castanopsis hystrix* and *Erythrophleum fordii* in subtropical China.Acta Ecologica Sinica,2016,36(14): - .

南亚热带红椎和格木人工幼龄林土壤微生物群落结构 特征

洪丕征¹,刘世荣^{1,*},王 晖¹,于浩龙²

1 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所,国家林业局森林生态环境重点实验室,北京 1000912 中国林业科学研究院热带林业实验中心,凭祥 532600

摘要:采用氯仿熏蒸浸提法和磷脂脂肪酸法(Phospholipids fatty acid, PLFA)研究了我国南亚热带地区非固氮树种红椎(*Castanopsis hystrix*)和固氮树种格木(*Erythrophleum fordii*)人工幼龄林土壤微生物生物量与微生物群落结构特征。结果表明, 在旱季和雨季,红椎幼龄林土壤微生物总 PLFAs 量,细菌 PLFAs 量、放线菌 PLFAs 量及丛枝菌根真菌 PLFAs 量均大于格木幼 龄林。红椎幼龄林土壤 PLFA Shannon 多样性指数(*H*_{PLFA})在旱季和雨季均大于格木幼龄林。主成分分析表明,土壤微生物群 落结构组成受到林分类型和季节的双重影响。冗余分析表明,土壤硝态氮(NO₃⁻-N)含量、土壤含水量、pH 及土壤微生物量 氮(MBN)与特征磷脂脂肪酸之间呈显著相关关系。以上结果表明固氮树种格木与非固氮树种红椎人工幼龄林对土壤微生物 生物量和群落结构的影响存在显著差异。

关键词:南亚热带;固氮树种;非固氮树种;土壤微生物群落

Characteristics of soil microbial community structure in two young plantations of *Castanopsis hystrix* and *Erythrophleum fordii* in subtropical China

HONG Pizheng¹, LIU Shirong^{1,*}, WANG Hui¹, YU Haolong²

1 Key Laboratory of Forest Ecology and Environmental Sciences of State Forestry Administration, Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

2 Experimental Center of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Pingxiang 532600, China

Abstract: The effects of two plantation stands of non-N-fixing *Castanopsis hystrix* and N-fixing *Erythrophleum fordii* on soil microbial biomass and microbial community structure in south subtropical China were studied by fumigation-extraction and phospholipid fatty acid (PLFA) analyses. The results showed that soil pH, soil N status (total N, NH_4^+ -N and NO_3^- -N), soil microbial total PLFAs, bacterial PLFAs, actinomycetes PLFAs and arbuscular mycorrhizal fungi PFLAs were significantly influenced by plantation type and season, while only season significantly influenced soil microbial biomass carbon and fungal PLFAs, but soil microbial biomass nitrogen(MBN) was not significantly affected by plantation type and season. The content of soil NH_4^+ -N and NO_3^- -N in *C. hystrix* plantation were significantly higher than those in *E. fordii* plantation during both the dry and rainy seasons. In addition, the amounts of soil microbial total PLFAs and bacterial, actinomycete, and arbuscular mycorrhizal fungi PFLAs in *C. hystrix* plantation were significantly higher than those in *E. fordii* plantation during both the seasons as well. Furthermore, the richness and Shannon diversity index of soil microbial PLFAs in *C. hystrix* plantation were significantly higher than those in *E. fordii* plantation during both the seasons as well. Furthermore, the richness and Shannon diversity index of soil microbial PLFAs in *C. hystrix* plantation were significantly higher than those in *E. fordii* plantation during both the seasons as well. Furthermore, the richness and Shannon diversity index of soil microbial PLFAs in *C. hystrix* plantation were significantly higher than those in *E. fordii* plantation during both the seasons as well. Furthermore, the richness and Shannon diversity index of soil microbial PLFAs in *C. hystrix* plantation were significantly higher than those in *E. fordii* plantation during both the seasons as well.

收稿日期:2014-11-24; 网络出版日期:2015-00-00

基金项目:国家科技支撑计划项目(2012BAD22B01)

^{*} 通讯作者 Corresponding author.E-mail: liusr@ caf.ac.cn

plantation was significantly higher than that in *E. fordii* plantation during both the seasons. Principal component analysis indicated that variations in the soil microbial community structure were affected by both the plantation types and seasons. Redundancy analysis of soil microbial community structure and environmental factors showed that NO_3^- , soil water content, soil pH, and microbial biomass nitrogen had significant correlations with PLFA signatures. Thus, our study results showed significantly different effects of non-N-fixing *C. hystrix* and N-fixing *E. fordii* plantation stands on the soil microbial biomass and community structure. Overall, soil pH and N status may be the main factors that could regulate soil microbial biomass and community structure in the studied plantations.

Key Words: Subtropical China; N-fixing tree species; non-N-fixing tree species; soil microbial community

土壤微生物群落是森林生态系统养分循环、有机质分解、养分有效性、土壤结构形成等关键过程的积极参与者^[1-4]。同时,作为土壤中最具活力的部分,土壤微生物与土壤肥力和土壤健康状况紧密相连,也作为评价不同经营措施对土壤特征影响的生态学指标。土壤微生物群落的数量和比例是表征土壤生态系统群落结构和稳定性的重要参数之一,它能较早地预测土壤养分及环境质量的变化,被认为是最有潜力的敏感性生物指标之一^[5-6]。了解森林土壤微生物生物量和微生物群落结构的变化有助于对森林生态系统功能的变化做出解释。评估土壤管理活动对土壤微生物群落结构、多样性及活性的影响对推动人为管理与自然生态系统的功能性、稳定性及恢复潜力至关重要^[7]。

目前,国外有关固氮树种(N-fixing tree species)与非固氮树种(non-N-fixing tree species)对土壤微生物群 落影响的研究相对较少,但仍取得了一些成果^[8],尽管这些结论未达成共识。研究表明,相比于非固氮树种, 固氮树种对林地土壤微生物群落结构产生不同程度的影响^[8-10]。例如,Boyle 等^[9]在北美西北部森林中研究 发现非固氮树种花旗松(*Pseud-otsuga menziesii*)林和固氮树种红桤木(*Alnus rubra*)林中土壤微生物群落组成 无显著差异。与之类似,Bini等^[10]研究发现固氮树种马占相思(*Acacia mangium*)幼龄林与非固氮树种巨桉 (*Eucalyptus grandis*)幼龄林中土壤微生物生物量碳氮含量无显著差异,但马占相思幼龄林土壤脱氢酶 (Dehydrogenase enzyme)活性显著高于巨桉幼龄林,这表明固氮树种与非固氮树种杯下土壤微生物群落结构 和微生物活性存在差异。Hoogmoed 等^[8]研究发现,尽管固氮树种(银荆,*Acacia dealbata*;灰木相思,*Acacia implexa*)与非固氮树种(赤桉,*Eucalyptus camaldulensis*;多花桉,*Eucalyptus polyanthemos*)林下土壤微生物群落 结构无显著差异,但在物种水平上固氮树种银荆林下土壤微生物群落结构与非固氮树种赤桉和多花桉存在显 著差异,并且银荆林土壤微生物总 PLFAs 量最高。以上研究表明,固氮树种与非固氮树种对土壤微生物群落 的影响仍存在着较大的不确定性,因此,有必要开展相关研究以进一步明确固氮树种与非固氮树种为土壤微

在我国亚热带地区,人工造林、再造林已成为森林培育和经营的重要方式^[11]。然而,随着大规模、持续单一人工针叶林如马尾松(Pinus massoniana)和杉木(Cunninghamia lanceolata)等,或桉树(Eucalyptus)等外来树种短周期工业用材林的发展,造成了诸如生物多样性丧失、土壤退化、生态系统稳定性降低等问题^[12]。为促进人工林的多目标经营,提高人工林的生态功能和经济价值,许多乡土珍贵阔叶树种(包括固氮树种)逐渐被用于亚热带人工林营建的生产实践中。近年来,有关不同林分对土壤微生物生物量和群落结构的影响方面的研究国内外已有报道^[11-14],然而,对固氮树种与非固氮树种人工纯林营建初期土壤微生物响应的研究相对缺乏。非固氮树种红椎(Castanopsis hystrix)和固氮树种格木(Erythrophloeum fordii)是热带、亚热带地区常见的珍贵乡土树种,在林业生态工程建设中占重要地位,在我国亚热带地区大面积种植。为此,本文以我国南亚热带具有相同经营历史与立地条件的红椎和格木人工幼龄林为研究对象,采用磷脂脂肪酸法(Phospholipids fatty acid,PLFA)研究比较不同营林模式下人工林土壤微生物量和微生物群落结构的季节变化,以及土壤微生物与环境因子的相关关系,以期为深入认识该地区不同树种人工林的生态功能,特别是土壤微生物的生态功能提供科学依据。

1 研究区域与方法

1.1 研究区概况

试验地位于广西壮族自治区凭祥市境内的中国林科院热带林业实验中心哨平实验场(N22°3'3.8",E106° 54'17.5")。该地区属于南亚热带季风气候,属湿润半湿润气候,干湿季节分明。境内光照充足,降水充沛,年 平均降水量为1400 mm,主要发生在4月至9月。年蒸发量1261—1388 mm,相对湿度80%—84%。年平均气 温 20.5—21.7 ℃,平均月最低温度12.1 ℃,平均月最高温度26.3 ℃;≥10 ℃活动积温6000—7600 ℃,年均日 照时数1419 h。主要地貌类型以低山丘陵为主,地带性土壤以红壤为主,主要由花岗岩风化形成。

选择该区域 2010 年营建的红椎、格木人工幼龄试验林为研究对象,造林地为杉木人工林采伐迹地,立地 条件基本一致。在同一坡面建立 6 个实验小区,每个小区的面积为 1 ha,采用随机区组设计,每个区组 3 个重 复,分别为造林树种红椎和格木。各个小区均采用同一密度造林,株行距均为 2 m×2.5 m,造林时未进行炼 山、施肥等管理措施,每年进行 2 次除草。草本优势种主要为五节芒(*Miscanthus floridulus*)。研究地林分基本 情况见表 1。

Table 1 Characters of experimental plantation stands											
林型 Plantation type	林龄 Age/a	树高 Height/m	地径 DBH/cm	密度 Density/(trees/hm ²)	坡度 Slope grade/(°)	海拔 Altitude/m					
红椎 C. hystrix	4	2.43±0.27	3.95±0.19	2000	35	268					
格木 E. fordii	4	1.65 ± 0.22	2.81±0.15	2000	31	260					

表 1 研究地林分基本情况

1.2 试验设计与样品采集

于 2012 年 4 月分别在红椎、格木幼龄林各个小区的相同坡位随机建立 1 个 20 m×20 m 的样方,根据当地 气候特点分别于 2013 年 1 月(旱季)和 8 月(雨季)进行土壤样品取样。在每个样方随机选取 8 个点,用不锈 钢土钻(直径 8 cm)采集 0—10 cm 表层土壤,然后混合为一个样品尽快带回实验室。实验室内先测定新鲜土 样品的土壤含水量,然后 2 mm 过筛,将样品分为 2 份,其中一份置入-20 ℃冰箱中冻存,1 周内完成土壤微生 物群落组成的测定,另一份自然风干后过 0.25 mm 细筛,以待土壤理化性质分析。

1.3 分析方法

1.3.1 土壤微生物碳氮测定方法

土壤微生物生物量碳(microbial biomass carbon, MBC)和微生物生物量氮(microbial biomass nitrogen, MBN)采用氯仿熏蒸浸提法测定^[15]。其中熏蒸处理为25℃真空条件下培养48h,采用0.5 mol/L K₂SO₄浸提 液提取。采用全有机碳自动分析仪(TOC-VCPH,日本岛津)测定抽提液中的有机碳和全氮含量。MBC 和 MBN (mg kg⁻¹)的计算方法如下^[16-17]:

$$MBC = 2.22 EC \tag{1}$$

$$MBN = 2.22 EN$$
(2)

式中,EC(extractable organic carbon)、EN(extractable nitrogen)分别为熏蒸和未熏蒸土样浸提液中的有机碳、全氮的差值;2.22为校正系数。

1.3.2 微生物群落组成的测定

土壤基本理化性质测定方法参见《土壤农业化学分析方法》^[18]。土壤微生物生物量和微生物群落结构 采用磷脂脂肪酸法(PLFA)进行测定^[19]。该方法以酯化 C19:0 为内标,用安捷伦 6890 气相色谱仪(Hewlett-Packard 6890,美国安捷伦)进行测定。单个脂肪酸种类用 nmol/g 干土表示,每种脂肪酸的浓度基于碳内标 19:0 的浓度来计算。单个 PLFA 的相对丰度用摩尔百分比(mol %)表示。本研究中,PLFAs i14:0、i15:0、i16:0、i17:0、a15:0、a17:0 用来指示革兰氏阳性菌;PLFAs 16:1ω7c、18:1ω7c、cy17:0、15:0 3OH 和 16:1 2OH

生 态 学 报

用来指示革兰氏阴性菌;放线菌用 PLFAs 10Me 16:0, 10Me 17:0 和 10Me 18:0 来指示; PLFAs 16:1ω5c 则用 来指示丛枝菌根; PLFAs 18:2ω6,9c 和 18:1ω9c 用来指示真菌^[5, 20-21]。真菌细菌比的计算方法为: (PLFAs 18:2ω6,9c、18:1ω9c / PLFAs i14:0, i15:0, i16:0, i17:0, a15:0, a17:0, 16:1ω7c, 18:1ω7c, cy17:0, 15:0 30H、16:1 20H)^[5, 20-21]。

1.3.3 土壤 PLFA 多样性指数

PLFA 丰富度指数(R)为每个土壤样品中出现的脂肪酸种类^[22-23],PLFA 多样性指数用 Shannon 多样性指数(H)来表征^[23],其计算方法如下^[23]:

$$H = \sum_{i=1}^{R} pi \ln pi \tag{3}$$

式中,*pi*为每个脂肪酸的相对丰度,*R*为被检测出的脂肪酸种类,PLFA均匀度指数采用 Shannon's 均匀度指数 (*E*)^[22],其计算方法如下^[22]:

$$E = \frac{H}{\ln(R)} \tag{4}$$

1.4 数据分析与处理

运用 SPSS 19.0 对土壤微生物及环境变量差异进行单因素方差分析(one-way ANOVAs)(P<0.05)。利用 双因素方差分析(two-way ANOVAs)检验林分类型、季节及其交互作用对微生物变量的影响。不同林分和季 节下土壤微生物群落结构的差异、土壤微生物群落结构的变化与土壤理化性质的关系运用 CANOCO 4.5 软件 (Microcomputer Power, Inc., Ithaca, NY)分别进行主成分分析(principal component analysis, PCA)与冗余分 析(redundancy analysis, RDA)。绘图采用 Origin Pro 9.0 软件。

2 结果与分析

2.1 土壤性质

2种林分干湿季节的土壤性质见表2,林分和季节均显著影响了土壤pH、全氮、铵态氮和硝态氮含量,但 对土壤有机碳含量及土壤碳氮比的影响不显著。由表2可以看出,2种林分土壤pH在旱季无显著差异,但在 雨季格木幼龄林土壤pH显著低于红椎幼龄林(P<0.05)。不同季节红椎幼龄林土壤铵态氮和硝态氮含量均 显著高于格木幼龄林(P<0.05)。2种林分旱季的土壤pH、全氮、铵态氮和硝态氮含量均大于雨季(P<0.05)。

	早季 D	早季 Drv season 雨季 Rainv season			双因素方差分析			
变量 Variables	红椎林 C.hystrix	格木林 E. fordii	红椎林 C.hystrix	格木林 E. fordii	PT	vo-way anov S	a PT×S	
pH	4.51±0.03a	4.45±0.03a	4.34±0.01a	4.28±0.01b	*	* * *	ns	
铵态氮 NH ₄ -N/(mg/kg)	21.78±0.66a	$7.95 \pm 0.43 \mathrm{b}$	17.77±2.14a	$13.10{\pm}0.78\mathrm{b}$	* *	* *	ns	
硝态氮 NO3-N/(mg/kg)	12.24±2.47a	$2.69 \pm 0.53 \mathrm{b}$	2.30±0.20a	$1.37 \pm 0.03 \mathrm{b}$	* * *	* *	ns	
全氮 Total N/(g/kg)	$1.06 \pm 0.05 a$	1.03±0.06a	0.95±0.01a	$0.86 \pm 0.01 \mathrm{b}$	* *	* *	ns	
土壤有机碳 Organic C/(g/kg)	$17.80 \pm 1.01a$	17.10±0.38a	17.67±0.38a	16.73±0.32a	ns	ns	ns	
碳氮比 C/N	16.78±0.32a	17.14±0.26a	18.67±0.58a	19.46±0.37a	ns	ns	ns	

表 2	不同季节2	种林分土壤性质的对比
~~ =	이 이 그 구 나이를	

PT:林分 Plantation type;S:季节 Season;不同小写字母表示林分间的差异达到显著水平(P<0.05),下同;*,**,** 分别代表显著性 水平 P<0.05,P<0.01 和 P<0.001

2.2 土壤微生物生物量

2种林分土壤微生物生物量碳(MBC)含量随季节变化而变化,干季总体高于雨季(图1A);而土壤微生物 生物量氮(MBN)含量与土壤微生物生物量碳氮比并未受到林分、季节及其交互作用的影响(表3)。无论在

旱季或雨季中,2种林分土壤 MBC 和 MBN 含量均无显著差异(图 1, 表 3)。

Table 3 Effects of plantation type, season and their interactions on soil microbial biomass										
亦是 Variables	林分 Pla	林分 Plantation type		Season	交互作用 Interactions					
文里 Vanables	F	Р	F	Р	F	Р				
总 PLFAs Total PLFAs	19.105	0.002	121.700	P<0.001	1.198	0.306				
细菌 PLFAs Bacterial PLFAs	22.714	0.001	93.628	P<0.001	0.570	0.472				
真菌 PLFAs Fungal PLFAs	0.656	0.441	79.957	P<0.001	0.291	0.604				
放线菌 PLFAs Actinomycetes PLFAs	22.450	0.001	105.408	P<0.001	1.216	0.302				
丛枝菌根真菌 PLFAs AMF PLFAs	44.470	P<0.001	29.042	0.001	3.611	0.094				
真菌细菌比 F:B ratio	1.521	0.252	0.856	0.382	0.001	0.978				
微生物量碳 MBC	2.633	0.143	9.457	P<0.05	0.095	0.766				
微生物量氮 MBN	0.077	0.788	3.651	0.092	0.090	0.772				
微生物碳氮比 MBC/MBN	2.371	0.162	0.135	0.722	0.346	0.573				

微生物碳氮比 MBC/MBN2.3710.1620.1350.7220.3460.573PLFAs: 磷脂脂肪酸 Phospholipids fatty acids; AMF:丛枝菌根真菌 Arbuscular mycorrhizal fungi; F:B: 真菌细菌比 Ratio of fungal to bacterialPLFAs. MBC: 微生物生物量碳 Microbial biomass carbon; MBN: 微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen; MBC/MBN: 微生物生物量碳氮比

Ratio of microbial biomass carbon to nitrogen





Fig.1 Comparisons of soil MBC and MBN contents in two plantations in different seasons

不同小写字母表示林分间的差异达到显著水平(P<0.05), Significant differences (P<0.05) among plantations are indicated by different letters

总体来说,林分与季节对土壤微生物总 PLFAs 量、细菌 PLFAs 量、放线菌 PLFAs 量及丛枝菌根真菌 PLFAs 量均产生了显著影响,而季节仅对土壤真菌 PLFAs 量的影响显著(表 3)。在雨季和干季,红椎幼龄林 土壤微生物总 PLFAs 量、细菌 PLFAs 量、放线菌 PLFAs 量及丛枝菌根真菌 PLFAs 量均显著高于格木幼龄林, 而土壤真菌 PLFAs 量在 2 种林分中无显著差异(图 2C)。

2.3 土壤微生物群落结构

方差分析结果表明,土壤微生物真菌细菌比未受到林分、季节及其交互作用的显著影响(表 3)。在旱季, 格木幼龄林中土壤微生物真菌细菌比显著高于红椎幼龄林(P<0.05),在雨季则无显著差异(P>0.05)(图 2F)。林分与季节对革兰氏阳性细菌 PLFAs 和革兰氏阴性细菌 PLFAs 的相对丰度均产生了显著影响,然而林 分仅对真菌 PLFAs 和丛枝菌根真菌 PLFAs 的相对丰度产生了影响显著(表 4)。在旱季,红椎幼龄林土壤革 兰氏阳性细菌 PLFAs 的相对丰度显著高于格木幼龄林(P<0.05),在雨季其在 2 种林分中则无显著差异(P> 0.05)。无论雨季还是干季,红椎幼龄林土壤革兰氏阴性细菌 PLFAs 和丛枝菌根真菌 PLFAs 的相对丰度均高 于格木幼龄林,而真菌 PLFAs 相对丰度均显著低于格木幼龄林(图 3)。

对不同林分和季节下土壤中所提取的27种磷脂脂肪酸进行主成分分析,结果表明,第1、2主成分对土壤





Fig.2 Comparisons of soil microbial PLFAs content in two plantations in different seasons

PLFAs: 磷脂脂肪酸 Phospholipids fatty acids; Actino.:放线菌 Actinomycetes; AMF: 丛枝菌根真菌 Arbuscular mycorrhizal fungi; F/B: 真菌细菌 比 Ratio of fungal to bacterial PLFAs



图 3 不同季节 2 种林分土壤微生物群落磷脂脂肪酸的相对丰度

Fig.3 Relative abundances of the microbial community PLFAs (mol %) in two plantations in different seasons

G+:革兰氏阳性细菌 Gram-positive bacteria;G-:革兰氏阴性细菌 Gram-negative bacteria;AMF:丛枝菌根真菌 Arbuscular mycorrhizal fungi

微生物群落结构差异的贡献值分别为 68.4%、17.4%(图 4)。红椎幼龄林与格木幼龄林沿第二主成分轴可明 显分开,说明 2 种林分的土壤微生物群落结构存在显著差异。2 种林分在旱季、雨季的微生物群落结构沿第 一主成分轴可明显区分开,说明 2 种林分的土壤微生物结构存在着显著的季节变化(图 4A)。



图 4 土壤微生物群落结构主成分分析(A)和磷脂脂肪酸初始载荷因子主成分分析(B)

Fig.4 Principal component analysis of soil microbial community structure (A) and eigenvector of phospholipid fatty acids contributing to soil microbial communities ordination pattern (B)

CH: 红椎幼龄林 C. hystrix plantation; EF: 格木幼龄林 E. fordii plantation; D: 旱季 Dry season; R: 雨季 Rainy season

PLFA 初始载荷因子主成分分析结果表明,单一磷脂脂肪酸中,对第一主成分起主要作用的是真菌 PFLA 生物标记(18:2ω6,9c 和 18:1ω9c),革兰氏阳性细菌 PLFA 生物标记(i16:0 和 i17:0)及革兰氏阴性细菌标记 物 16:1 2OH。而革兰氏阴性细菌 PFLA 标记物(16:1ω7c, 18:1ω7c, cy17:0)及放线菌 PLFA 生物标记(10Me 16:0、10Me 17:0、10Me 18:0)对第二主成分轴的贡献较大(图 4B)。

7

表 4 林分、季节及其交互作用对土壤微生物群落结构的影响

Table 4	Effects of plantation type	accord and their	n interrections on co	il microhiol	a a management of the state of
rable 4	FILECTS OF DIALITY PROFESSION	. season and then	r interactions on so	ні писгоріаі (community structure
		,			

亦县 Vonicklas	林分 Plantation type		季节 Season		交互作用 Interactions	
文里 Variables	F	Р	F	Р	F	Р
革兰氏阳性细菌相对丰度 The proportion of gram-positive bacterial PLFAs	3.100	0.116	8.927	0.017	0.071	0.796
革兰氏阴性细菌相对丰度 The proportion of gram-negative bacterial PLFAs	9.376	0.016	15.472	0.004	3.016	0.121
真菌相对丰度 The proportion of fungal PLFAs	78.709	<i>P</i> <0.001	5.092	0.054	0.597	0.462
放线菌相对丰度 The proportion of actinomycetes PLFAs	2.911	0.126	3.009	0.121	0.001	0.978
丛枝菌根真菌相对丰度 The proportion of arbuscular mycorrhizal fungi PLFAs	46.179	<i>P</i> <0.001	0.225	0.648	0.840	0.386

2.4 土壤微生物群落 PLFA 多样性

方差分析结果表明,仅林分因素显著影响了 PLFA 丰富度(F=8.067, P=0.022)与 PLFA 多样性(F=28.483, P=0.001),而林分、季节及其交互作用对土壤 PLFA 均匀度均未产生显著影响。旱季,红椎幼龄林土壤 PLFA 丰富度显著高于格木幼龄林(图 5A)。此外,旱季和雨季红椎幼龄林土壤 PLFA 多样性均大于格木 幼龄林(图 5B)。



图 5 PLFA 多样性指数 Fig.5 PLFA diversity indices

2.5 土壤微生物群落变化与土壤理化性质的关系

相关分析表明,土壤微生物总 PLFAs 与土壤 pH、铵态氮、硝态氮、全氮、MBC 及 MBN 呈显著正相关,然而 与土壤含水量和土壤温度呈极显著负相关。革兰氏阳性细菌的相对丰度与 pH、铵态氮、硝态氮、全氮及 MBC 呈显著正相关,但与土壤含水量、土壤温度呈显著负相关。革兰氏阴性细菌的相对丰度与土壤含水量、土壤温 度呈显著负相关。此外,真菌相对丰度与铵态氮、硝态氮、全氮及 MBC 呈显著负相关,丛枝菌根真菌的相对丰 度与铵态氮及硝态氮呈显著正相关(表 5)。

Table 5 Pearson's correlation between soil microbial total PLFAs and microbial community structure and soil properties										
变量 Variables	总 PLFAs Total PLFAs	革兰氏 阳性细菌 G ⁺	革兰氏 阴性细菌 G⁻	真菌 Fungal	放线菌 Actino.	丛枝菌 根真菌 AMF	真菌/细菌 F/B			
pH	0.892 **	0.786 **	-0.395	-0.564	-0.188	0.261	0.155			
铵态氮 NH ₄ -N	0.808 **	0.735 **	-0.022	-0.793 **	0.120	0.689 *	-0.076			
硝态氮 NO3-N	0.681 *	0.578 *	0.217	-0.868 **	0.250	0.828 **	-0.343			
有机碳 Organic C	0.377	0.424	0.302	-0.452	0.404	0.533	-0.367			
全氮 Total N	0.766 **	0.760 **	-0.172	-0.750 **	0.002	0.437	-0.001			
碳氮比 C/N	-0.444	-0.380	0.411	0.361	0.343	0.010	-0.317			
土壤含水量 Soil water content	-0.891 **	-0.611 *	0.662*	0.232	0.528	0.069	-0.240			
土壤温度 Soil temperature	-0.926 **	-0.687 *	0.636*	0.254	0.449	0.035	-0.280			
微生物生物量碳 MBC	0.792 **	0.800 **	-0.076	-0.581 *	0.165	0.414	-0.146			
微生物生物量氮 MBN	0.595 *	0.516	-0.130	-0.076	-0.061	0.072	-0.164			
微生物生物量碳氮比 MBC/MBN	-0.068	0.081	0.209	-0.463	0.250	0.258	0.034			

表 5 土壤微生物总 PLFAs 和微生物群落结构与环境因子的相关分析

对 2 种林分土壤微生物群落结构与土壤理化性质进行冗余分析,结果表明,11 个变量包括土壤温度、土壤含水量、pH、有机碳、铵态氮、硝态氮、全氮、碳氮比、微生物生物量碳、微生物生物量氮和微生物生物量碳氮比共解释了土壤微生物群落结构变化的 85.4%。其中,第1 轴共解释了 68.4%的变异,第2 轴解释了 17.0%。 Monte Carlo 检验表明,土壤微生物群落结构与硝态氮(F=10.74,P=0.002)、土壤含水量(F=8.11,P=0.002)、 pH(F=3.11,P=0.038)和微生物生物量氮(F=2.38,P=0.048)显著相关。硝态氮与 Axis 1 轴呈显著正相关, 土壤含水量与 Axis 2 轴呈显著正相关,而微生物生物量氮、pH 与 Axis 2 轴呈显著负相关(图 6)。





Fig.6 Redundancy analysis on the individual PLFAs and soil properties

SWC:土壤含水量 Soil water content; ST:土壤温度 Soil temperature; SOC:有机碳 Soil organic carbon; Ammonia-N:铵态氮 NH₄⁺-N;Nitrate-N:硝 态氮 NO₃⁻-N; TN:全氮 Total nitrogen; C/N:碳氮比 Ratio of soil carbon to nitrogen; MBC:土壤微生物生物量碳 Microbial biomass carbon; MBN: 土壤微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen; MBC/MBN:土壤微生物生物量碳氮比 Ratio of MBC/MBN 通过单个 PFLA 与环境因子相关关系排序可以发现,土壤含水量与放线菌 PLFA 标记(10Me16:0、10Me17:0)呈显著正相关,即这些 PLFAs 的相对丰度随着土壤含水量的升高而升高。硝态氮含量与丛枝菌根 真菌 PLFA 标记(16:1ω5c)、革兰氏阴性菌 PLFA 标记(cy17:0、18:1ω7c、15:0 3OH)、放线菌 PLFA 标记 (10Me18:0)及革兰氏阳性细菌 PLFA 标记(i15:0、a15:0)呈显著正相关(图 6)。土壤 pH 和 MBN 与革兰氏 阳性细菌 PLFA 标记 i14:0 呈显著正相关(图 6)。

3 讨论

一般来说,土壤微生物群落的季节变化与土壤温湿度的季节变异密切相关^[24]。与旱季相比,雨季的土壤 温湿度条件往往更利于土壤微生物的生长。然而,本研究却发现旱季土壤微生物的 PLFAs 总量和主要菌群 PLFAs 量均要高于雨季(图 2),与白震等^[25]和 Rogers^[26]等研究发现雨季微生物生物量较高的结果并不相同。 他们认为,雨季的温湿度更有利于植物凋落物的分解,加上植物因旺盛生长而向土壤中分泌的大量有机碳等 易降解底物,土壤中可利用底物丰富,有利于微生物的生长。而 Lipson 等^[27]、牛佳等^[28]和王卫霞等^[14]在研 究不同季节条件下土壤微生物群落结构特征时,得到与本研究相似的结论。在旱季,植物的凋落物量较大,加 上土壤通气性较好,土壤中溶解性氧含量增多,有利于需氧微生物的生长,微生物生物量较高^[28-29]。因此,影 响土壤微生物的因素较多,其生物量的高低仍取决于起关键作用的影响因素。本研究中,雨季土壤 MBC 最 低,干季最高,其原因可能是植物在雨季对土壤养分的大量需求限制了土壤微生物对养分的可利用性,暗示了 植物生长对养分的吸收与土壤微生物对体内养分的保持具有同步性^[14,30]。

研究证实,固氮树种可通过共生微生物固定 N₂,从而增加土壤 C、N 含量^[31]。尽管格木为固氮树种,但本 研究中红椎幼林的土壤有机碳和全氮含量并未显著低于格木幼林。Bini 等^[10] 在固氮树种马占相思幼龄林 (Acacia mangium)与非固氮树种巨桉(Eucalyptus grandis)幼龄林的研究中也得到类似结论。研究表明,森林 对土壤 C 库和 N 库的影响因林龄、生长速率、季节和树种特性的不同而有较大差异^[8, 10-11, 14], 而凋落物量和 分解速率的差异是林分类型影响土壤 C 库和 N 库最重要的因素。鉴于本研究中 2 种林分林龄和造林时的立 地条件基本一致,造成这种现象的可能原因是红椎相对格木生长快(表1),凋落物和细根生物量相对较高,因 而土壤全氮和有效氮含量相对较高。本研究中,固氮树种格木幼龄林土壤 NH₄ 和 NO₃ 含量在 2 个季节中均 显著小于红椎幼龄林,此与 Wang 等^[31]在我国南亚热带固氮树种与非固氮树种对土壤理化性质的影响研究 中得到的结果相似,造成这种现象的主要原因可能与植物对 N 素的吸收、N 的矿化和硝化以及 N 素淋溶差异 有关,而固氮树种与非固氮树种对 NH₄ 和 NO₅ 吸收的差异可能是主要原因^[31]。此外,本研究还发现雨季固 氮树种格木幼龄林土壤 pH 显著低于非固氮树种红椎幼龄林,旱季也有类似趋势,尽管差异不显著(表2)。 与之类似,许多研究表明固氮树种造林会加剧土壤酸化^[10,32-34]。例如,Bini等^[10]研究发现固氮树种马占相思 幼龄林(Acacia mangium)中土壤 pH 显著低于非固氮树种巨桉(Eucalyptus grandis)幼龄林^[10], Rhoades & Binkley^[10]发现固氮树种合欢(Albizia julibrissin)人工林土壤 pH 的下降幅度(从 5.9 到 4.5)显著高于非固氮树 种桉树(Eucalyptus)人工林(从 5.9 到 5.0)。固氮树种造林加剧土壤酸化主要与植物固氮作用和土壤硝化过 程有关,这2个生化过程均可产生质子,从而导致土壤 pH 的降低^[10]。此外,其他因素如大气 N 沉降、土壤离 子淋溶、植物吸收和凋落物分解也可促使土壤进一步酸化[31,33-34]。

不同林分类型可对土壤理化性质(如土壤 pH、有机碳、土壤 N 素状况等)产生显著影响,进而影响土壤微 生物生物量和群落结构^[8,10-11,14]。本研究中,红椎幼龄林相对较高的土壤 pH 其土壤微生物总 PLFAs 量也较 高;而在土壤 pH 较低的格木幼龄林下,其土壤微生物总 PLFAs 量也较低,并且 2 种林分土壤微生物群落结构 在 2 个季节中均存在显著差异,表明土壤 pH 和有效氮可能是影响土壤微生物生长的主要因素。固氮树种会 加剧土壤酸化可能是 2 种林分土壤微生物群落存在差异的主要原因之一(表 2),土壤 pH 是影响微生物生长 和活性的一个重要因素,对土壤微生物生物量、微生物群落结构及土壤微生物参与的生物地球化学过程有显 著影响^[35-38]。本研究中土壤微生物总 PLFAs 量与 pH 显著正相关(表 5),与 Bååth 和 Anderson 的研究结果一 致^[39]。许多研究表明较低的土壤 pH 对森林土壤微生物中相对丰度较大的细菌产生生长抑制,并且降低细菌 群落的活性,从而导致其相对较低的生物量^[40-43]。此外,土壤 pH 与土壤微生物群落结构也存在着密切的关 系,研究表明,土壤真菌的相对丰度会随着土壤酸性的增强而升高^[44-45], 阔叶森林土壤细菌的相对丰度随土 壤 pH 值增加而增加^[5,44],本研究也有类似发现。Bååth & Anderson^[39]和 Rousk 等^[46]认为土壤 pH 值的增加 常常会伴随着丛枝菌根真菌丰度的增加。另外,土壤 pH 不仅是影响土壤新陈代谢功能和土壤微生物群落结 构的主要因子,同时也会影响土壤碳和养分的有效性^[47]。造成 2 种林分土壤微生物群落存在差异的另一个 重要原因是土壤 N 素状况,在该地区乡土树种人工纯林及混交林中的研究发现氮含量(全氮、铵态氮和硝态 氮)与土壤微生物各菌群的相对丰度之间大多呈显著相关关系^[11,14],本研究也有类似发现,这说明不同林分 类型对土壤 N 素状况的影响不同(表 2),进而对土壤微生物群落结构产生不同影响。诸多研究表明土壤微生 物需要 C 和 N 以维持自身能量需求,特别是维持其生长和活性^[8,11,14]。本研究中,相对较高的土壤有效氮含 量(NH₄⁴-N 和 NO₃⁻-N)其土壤微生物总 PLFAs 量也较高,反之亦然,而土壤微生物研究报道也表明,有效氮含量相 对较高的土壤具有较高的微生物总 PLFAs 量^[11]。我们的研究也进一步证实了土壤 N 素状况对维持微生物 生长及其活性的重要性。本研究中,相对于土壤碳源而言,土壤氮是影响微生物生长和发育的更重要因素。

综上所述,在我国南亚热带地区,固氮树种格木与非固氮树种红椎用于人工林改建后,固氮树种有进一步 加剧土壤酸化的趋势,在造林初期土壤微生物生物量和微生物群落结构存在显著差异,说明这2种林分对土 壤微生物群落产生了不同的影响。同时,土壤 pH 和氮素状况可能是调控这2种林分土壤微生物生物量和群 落结构的主要生态因子。

参考文献(References):

- [1] Kirk J L, Beaudette L A, Hart M, Moutoglis P, Klironomos J N, Lee H, Trevors J T. Methods of studying soil microbial diversity. Journal of Microbiological Methods, 2004, 58(2): 169-188.
- [2] Chodak M, Gołębiewski M, Morawska-Płoskonka J, Kuduk K, Niklińska M. Diversity of microorganisms from forest soils differently polluted with heavy metals. Applied Soil Ecology, 2013, 64: 7-14.
- [3] Schloter M, Dilly O, Munch J C. Indicators for evaluating soil quality. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2003, 98(1/3): 255-262.
- [4] Allison S D, Martiny J B H. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. Proceedings of the National Academy of Sciences the United States of America, 2008, 105(Supplement 1): 11512-11519.
- [5] Cao Y S, Fu S L, Zou X M, Cao H L, Shao Y H, Zhou L X. Soil microbial community composition under Eucalyptus plantations of different age in subtropical China. European Journal of Soil Biology, 2010, 46 (2): 128-135.
- [6] Xu Z F, Hu R, Xiong P, Wan C, Cao G, Liu Q. Initial soil responses to experimental warming in two contrasting forest ecosystems, Eastern Tibetan Plateau, China: nutrient availabilities, microbial properties and enzyme activities. Applied Soil Ecology, 2010, 46(2): 291-299.
- [7] Kennedy A C, Smith K L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. Plant and Soil, 1995, 170(1): 75-86.
- [8] Hoogmoed M, Cunningham S C, Baker P, Beringer J, Cavagnaro T R. N-fixing trees in restoration plantings: Effects on nitrogen supply and soil microbial communities. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 77: 203-212.
- [9] Boyle S A, Yarwood R R, Bottomley P J, Myrold D D. Bacterial and fungal contributions to soil nitrogen cycling under Douglas fir and red alder at two sites in Oregon. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(2): 443-451.
- [10] Bini D, Santos C A D, Bouillet J P, de Morais Gonçalves J L, Cardoso E J B N. Eucalyptus grandis and Acacia mangium in monoculture and intercropped plantations: Evolution of soil and litter microbial and chemical attributes during early stages of plant development. Applied Soil Ecology, 2013, 63: 57-66.
- [11] 罗达,史作民,唐敬超,刘世荣,卢立华.南亚热带乡土树种人工纯林及混交林土壤微生物群落结构.应用生态学报,2014,25(9): 2543-2550.
- [12] Wang H, Liu S R, Wang J X, Shi Z M, Lu L H, Zeng J, Ming A G, Tang J X, Yu H L. Effects of tree species mixture on soil organic carbon stocks and greenhouse gas fluxes in subtropical plantations in China. Forest Ecology and Management, 2012, 300: 4-13.
- [13] Chen T H, Chiu C Y, Tian G L. Seasonal dynamics of soil microbial biomass in coastal sand dune forest. Pedobiologia, 2005, 49(6): 645-653.
- [14] 王卫霞, 史作民, 罗达, 刘世荣, 卢立华. 南亚热带 3 种人工林土壤微生物生物量和微生物群落结构特征. 应用生态学报, 2013, 24(7):

1784-1792.

- [15] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. Soil Biology and Biochemistry, 1987, 19 (6): 703-707.
- [16] Brookes P C, Landman A, Pruden G, Jenkinson D S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. Soil Biology and Biochemistry, 1985, 17(6): 837-842.
- [17] Wu J, Joergensen R G, Pommerening B, Chaussod R, Brookes P C. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction-an automated procedure. Soil Biology and Biochemistry, 1990, 22(8): 1167-1169.
- [18] 鲁如坤..土壤农业化学分析方法.北京:中国农业科技出版社,2000.
- [19] Bossio D A, Scow K M. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. Microbial Ecology, 1998, 35(3/4): 265-278.
- [20] Liu L, Zhang T, Gilliam F S, Gundersen P, Zhang W, Chen H, Mo J M. Interactive effects of nitrogen and phosphorus on soil microbial communities in a tropical forest. PloS One, 2013, 8(4); e61188.
- [21] Myers R T, Zak D R, White D C, Peacock A. Landscape-level patterns of microbial community composition and substrate use in upland forest ecosystems. Soil Science Society of America Journal, 2001, 65(2): 359-367.
- [22] Zhang C, Liu G B, Xue S, Xiao L. Effect of different vegetation types on the rhizosphere soil microbial community structure in the loess plateau of China. Journal of Integrative Agriculture, 2013, 12(11): 2103-2113.
- [23] Liu X, Lindemann W C, Whitford W G, Steiner R L. Microbial diversity and activity of disturbed soil in the northern Chihuahuan Desert. Biology and Fertility of Soils, 2000, 32(3): 243-249.
- [24] Moore-Kucera J, Dick R P. PLFA profiling of microbial community structure and seasonal shifts in soils of a Douglas-fir chronosequence. Microbial Ecology, 2008, 55(3): 500-511.
- [25] 白震,何红波,解宏图,张明,张旭东.施肥与季节更替对黑土微生物群落的影响.环境科学,2008,29(11):3230-3239.
- [26] Rogers B F, Tate III R L. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33(10): 1389-1401.
- [27] Lipson D A, Schadt C W, Schmidt S K. Changes in soil microbial community structure and function in an alpine dry meadow following spring snow melt. Microbial Ecology, 2002, 43(3): 307-314.
- [28] 牛佳,周小奇,蒋娜,王艳芬.若尔盖高寒湿地干湿土壤条件下微生物群落结构特征.生态学报,2011,31(2):474-482.
- [29] Unger I M, Kennedy A C, Muzika R M. Flooding effects on soil microbial communities. Applied Soil Ecology, 2009, 42(1): 1-8.
- [30] Singh S, Ghoshal N, Singh K P. Variations in soil microbial biomass and crop roots due to differing resource quality inputs in a tropical dryland agroecosystem. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(1): 76-86.
- [31] Wang F M, Li Z A, Xia H P, Zou B, Li N Y, Liu J, Zhu W X. Effects of nitrogen-fixing and non-nitrogen-fixing tree species on soil properties and nitrogen transformation during forest restoration in southern China. Soil Science & Plant Nutrition, 2010, 56(2): 297-306.
- [32] Rhoades C, Binkley D. Factors influencing decline in soil pH in Hawaiian Eucalyptus and Albizia plantations. Forest Ecology and Management, 1996, 80(1/3): 47-56.
- [33] Yamashita N, Ohta S, Hardjono A. Soil changes induced by Acacia mangium plantation establishment: Comparison with secondary forest and Imperata cylindrica grassland soils in South Sumatra, Indonesia. Forest Ecology and Management, 2008, 254(2): 362-370.
- [34] Finzi A C, Canham C D, Van Breemen N. Canopy tree-soil interactions within temperate forests: species effects on pH and cations. Ecological Applications, 1998, 8(2): 447-454.
- [35] Clark J S, Campbell J H, Grizzle H, Acosta-Martinez V, Zak J C. Soil microbial community response to drought and precipitation variability in the Chihuahuan Desert. Microbial Ecology, 2009, 57(2): 248-260.
- [36] Liu W X, Jiang L, Hu S J, Li L H, Liu L L, Wan S Q. Decoupling of soil microbes and plants with increasing anthropogenic nitrogen inputs in a temperate steppe. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 72: 116-122.
- [37] Rousk J, Brookes P C, Bååth E. Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(6): 1589-1596.
- [38] Nilsson L O, Bååth E, Falkengren-Grerup U, Wallander H. Growth of ectomycorrhizal mycelia and composition of soil microbial communities in oak forest soils along a nitrogen deposition gradient. Oecologia, 2007, 153(2): 375-384.
- [39] Bååth E, Anderson T H. Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35(7): 955-963.
- [40] Bååth E. Growth rates of bacterial communities in soils at varying pH: a comparison of the thymidine and leucine incorporation techniques. Microbial Ecology, 1998, 36(3/4): 316-327.

- [41] Bååth E, Arnebrant K. Growth rate and response of bacterial communities to pH in limed and ash treated forest soils. Soil Biology and Biochemistry, 1994, 26(8): 995-1001.
- [42] Högberg M N, Bååth E, Nordgren A, Arnebrant K, Högberg P. Contrasting effects of nitrogen availability on plant carbon supply to mycorrhizal fungi and saprotrophs - a hypothesis based on field observations in boreal forest. New Phytologist, 2003, 160(1): 225-238.
- [43] Fernández-Calviño D, Bååth E. Growth response of the bacterial community to pH in soils differing in pH. FEMS Microbiology Ecology, 2010, 73 (1): 149-156.
- [44] Högberg M N, Högberg P, Myrold D D. Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees, or all three?. Oecologia, 2007, 150(4): 590-601.
- [45] Bardgett R D, Frankland J C, Whittaker J B. The effects of agricultural management on the soil biota of some upland grasslands. Agriculture, Ecosystems & Environment, 1993, 45(1/2): 25-45.
- [46] Rousk J, Brookes P C, Bååth E. The microbial PLFA composition as affected by pH in an arable soil. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42 (3): 516-520.
- [47] Kemmitt S J, Wright D, Goulding K W T, Jones D L. pH regulation of carbon and nitrogen dynamics in two agricultural soils. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(5): 898-911.