

DOI: 10.5846/stxb201706201118

蓝丽英, 廖蓉, 杨万勤, 吴福忠, 杨帆, 郭彩虹, 袁吉, 谭波. 萘对川西亚高山森林土壤微生物量、丰度和磷脂脂肪酸的影响. 生态学报, 2017, 37(23): 7956-7964.

Lan L Y, Liao R, Yang W Q, Wu F Z, Yang F, Guo C H, Yuan J, Tan B. Effects of naphthalene on soil microbial biomass, microbial abundance, and microbial phospholipid fatty acids in a subalpine forest of western Sichuan. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(23): 7956-7964.

萘对川西亚高山森林土壤微生物量、丰度和磷脂脂肪酸的影响

蓝丽英^{1, 2}, 廖蓉³, 杨万勤^{1, 2}, 吴福忠^{1, 2}, 杨帆^{1, 2}, 郭彩虹^{1, 2}, 袁吉^{1, 2}, 谭波^{1, 2, *}

1 四川农业大学生态林业研究所, 长江上游林业生态工程四川省重点实验室, 高山森林生态系统定位研究站, 水土保持与荒漠化防治省级重点实验室, 成都 611130

2 长江上游生态安全协同创新中心, 成都 611130

3 四川省阿坝藏族羌族自治州川西林业局, 理县 623102

摘要: 萘作为土壤动物化学抑制剂已在土壤动物生态功能的研究中广泛使用, 但其非目标效应使其应用仍存在很大的不确定性。为了解在亚高山森林土壤应用萘抑制土壤动物群落的非目标效应, 以川西亚高山森林土壤为研究对象, 采用微缩实验研究了土壤微生物生物量、丰度和磷脂脂肪酸对萘胁迫的短期响应。结果表明, 萘处理和对照的土壤微生物生物量碳(MBC)、真菌丰度以及细菌、真菌、革兰氏阳性菌(G^+)和革兰氏阴性菌(G^-) PLFAs 含量在整个培养期间表现为降低的变化趋势, 二者的土壤微生物生物量碳和 G^+ PLFAs 含量以培养 52d 最低, 细菌、真菌和 G^- PLFAs 含量以培养的 45d 最低。萘处理和对照的微生物生物量氮(MBN)含量表现出先升高后降低的动态, 微生物生物量碳氮比(MBC/MBN)则表现为相反趋势。对照的真菌/细菌 PLFAs 比值呈现先升高后降低的动态, 以培养的 17d 最高, 但萘处理的真菌/细菌 PLFAs 比值无明显变化规律; 萘处理的 G^+/G^- PLFAs 比值表现为降低的变化趋势, 对照的 G^+/G^- PLFAs 比值表现为先降低后升高的趋势。萘处理仅显著影响了 G^+/G^- PLFAs 比值, 但萘处理和采样时间的交互作用显著影响 MBC/MBN、细菌丰度、真菌/细菌丰度比以及细菌、真菌的 PLFAs 含量、真菌/细菌 PLFAs 比值、 G^+/G^- PLFAs 比值。萘作为土壤动物抑制剂对川西亚高山森林土壤微生物群落的非目标效应具有时间变异性。

关键词: 萘; 亚高山森林; 土壤微生物量; 微生物丰度; 磷脂脂肪酸

Effects of naphthalene on soil microbial biomass, microbial abundance, and microbial phospholipid fatty acids in a subalpine forest of western Sichuan

LAN Liying^{1, 2}, LIAO Rong³, YANG Wanqin^{1, 2}, WU Fuzhong^{1, 2}, YANG Fan^{1, 2}, GUO Caihong^{1, 2}, YUAN Ji^{1, 2}, TAN Bo^{1, 2, *}

1 Institute of Ecology & Forestry, Sichuan Agricultural University, Forestry Ecological Engineering in Upper Reaches of Yangtze River Key Laboratory of Sichuan Province, Alpine Forest Ecosystem Research Station, Soil and Water Conservation and Desertification Control Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu 611130, China

2 Collaborative Innovation Center of Ecological Security in the Upper Reaches of Yangtze River, Chengdu 611130, China

3 Forestry Bureau of Western Sichuan, Lixian 623102, China

基金项目: 国家自然科学基金(31500509, 31570445, 31500358, 31670526, 31622018); 四川省教育厅青年项目(14ZB0001); 四川农业大学科研兴趣培养项目(ky2016204); 四川农业大学大学生创新训练计划项目(1510626065)

收稿日期: 2017-06-20; 修订日期: 2017-09-19

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: bobotan1984@163.com

Abstract: As a biocide of soil fauna, naphthalene has been widely used in the study of the ecological functions of soil fauna; however, their effect on non-target organisms has raised doubts about its widespread application. The present study was conducted in order to determine whether there are non-target effects of naphthalene in the soil of subalpine forest in the west Qinghai-Tibet Plateau. The short-term responses of soil microbial biomass, microbial abundance, and microbial phospholipid fatty acids (PLFAs) to naphthalene were studied in microcosms. The results showed that the soil microbial biomass carbon (MBC), fungal abundance, and the contents of bacteria, fungi, gram-positive bacteria (G^+), and gram-negative bacteria (G^-) PLFAs were reduced during the entire study period. The lowest MBC and G^+ PLFAs contents in both the no-naphthalene and naphthalene microcosms were observed at the end of culture (52 days), and the lowest bacterial, fungal, and G^- PLFAs contents in both microcosms were observed at 45 days after application of naphthalene. The content of microbial biomass nitrogen (MBN) in the naphthalene and no-naphthalene microcosms showed increased and decreased dynamics during the entire study period, and the highest MBN in both microcosms were observed at 17 days after application of naphthalene, but reverse dynamic changes were observed for the ratio of MBC/MBN. The ratio of fungi/bacterial PLFAs in the no-naphthalene microcosm showed decreased and increased dynamics during the entire study period, and the highest fungi/bacterial PLFAs were observed at 17 days after application of naphthalene, whereas little change was detected in the naphthalene microcosm. The ratio of G^+/G^- PLFAs in the naphthalene microcosm was reduced during the entire study period, but showed increased and decreased dynamics in the no-naphthalene microcosm during the entire study period. Naphthalene treatment only significantly affected the ratio of G^+/G^- PLFAs, whereas the interaction of naphthalene treatment and sampling time had significant effects on the MBC/MBN ratio, bacterial abundance, fungi/bacterial abundance, PLFA content of bacteria and fungi, ratio of fungi/bacterial PLFAs, and G^+/G^- PLFAs ratio. In the short term, the non-target effects of naphthalene as a biocide to reduce soil fauna abundance may have a temporally variable influence on soil microbial communities in the subalpine forests of western Sichuan.

Key Words: Naphthalene; subalpine forest; soil microbial biomass; microbial abundance; phospholipid fatty acid

土壤动物和土壤微生物构成的土壤碎屑食物链在生态系统物质循环和能量流动上具有十分重要的作用与地位^[1]。土壤微生物一方面可通过自身繁殖促进食菌性土壤动物生长以及与土壤中腐生性无脊椎动物共同增大土壤团粒结构和促进土壤通透性的方式参与森林地表碎屑食物链的养分流动^[2-3]。另一方面,土壤动物群落可通过对微生物的选择性取食、繁殖体的接种传播以及微生物群落结构的改变进一步调控森林地表碎屑食物链碳和养分释放速率^[3-4]。因此,深入认识碎屑食物链上土壤动物与微生物相互作用和相互联系是理解森林地表的物质循环和能量转换机制的重要内容。

目前,基于食物链关系的微宇宙(Microcosm)控制试验是研究碎屑食物链土壤动物与微生物相互作用常用手段。Gebremikael 等^[5]研究表明,线虫类土壤动物可以通过控制食细菌微生物群落影响土壤硝化过程和氮素的矿化过程。Crowther 等^[1]研究表明,等足类土壤动物可以防止周围凋落物真菌的竞争排斥,抑制占主导地位的担子菌真菌和胞外酶活性从而间接调控凋落物养分释放。萘作为化学抑制剂常常能驱使土壤动物迁移甚至致死土壤动物,在探讨土壤动物生态功能的研究中广泛使用,然而,抑制剂的非目标效应也可能极大地影响了土壤微生物群落结构和活性。例如,Cotrufo 等^[6]研究表明,萘在有效抑制温带森林土壤节肢动物的同时并未对土壤线虫、微生物生物量和土壤碳动态造成显著影响;Blair 等^[7]研究发现,萘显著降低了亚热带森林凋落物中真菌数量,而对照的细菌数量明显低于萘处理;Nyyssönen 等^[8]对环境中萘降解的实时荧光定量PCR研究表明,萘降解过程中微生物基因拷贝数的直接关系不能确定。同时,不断增加的研究表明,萘能较好地抑制土壤中与微生物直接存在取食关系的土壤动物类群,但在不同生态系统的非目标效应仍具有不确定性^[1,4,6]。可见,在采用萘原位控制土壤动物群落研究其生态功能以及与微生物的相互作用和相互联系时,首先需要评估萘对微生物活性、群落结构和多样性等的非目标效应,了解实验的可操作性。因此,以青藏高原东缘的川西亚高山森林土壤为研究对象,采用微宇宙实验研究了土壤微生物量、丰度和磷脂脂肪酸对萘胁迫的短期响应,为进一步在亚高山森林生态系统采用萘作为抑制剂研究地表碎屑食物链物质循环过程中土壤动物与微生物的相互作用机制提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤采自四川省毕棚沟自然保护区高山森林生态系统定位实验研究站次生林群落(102°56'E, 31°18'N, 海拔 3023m)。该群落乔木以岷江冷杉(*Abies faxoniana*)为主,树龄 80a,郁闭度 0.7,林下灌木主要有箭竹(*Fargesia spathacea*)、三颗针(*Berberis julianae*)、红毛花楸(*Sorbus rufopilosa*)、沙棘(*Hippophae rhamnoides*)、扁刺蔷薇(*Rosa weginzowii*)等;草本主要有蟹甲草(*Cacalia auriculata*)、冷蕨(*Cystopteris montana*)、苔草属(*Carex* spp.)和莎草属(*Cyperus* spp.)等。森林土壤为湿润雏形土(*Cambisols*),基本概况和理化性质详见杨帆等^[9]的研究。

1.2 试验设计

2015 年 10 月下旬采集供试土壤。在已建立的岷江冷杉次生林群落 1hm²正方形固定样地中,随机选择 3 个 5m×5m 样方,在每个样方中采集 0—15cm 土层混合土壤,共 10kg。将样品装入冰盒低温处理,24h 内运回实验室,将样品去掉石块、动植物残体、根系和可见的大中型土壤动物后,混匀,过 2mm 筛。参照 Blair 等^[8]方法进一步去除微小型土壤动物和线虫,处理周期为 24h。

2015 年 11 月初进行培养试验。称取 50g 土壤样品装入 450mL 组织培养瓶,共称取培养瓶 80 个。其中,随机选择 40 个组织培养瓶作为茶处理组(8 次采样×5 个重复),茶施用量为 100g/m²^[7],每月添加一次;剩余 40 个组织培养瓶作为对照组,不施用茶。为测定培养过程中土壤呼吸速率,将组织培养瓶用凡士林密封置于人工气候箱培养待测。同时,准备 10 个无土组织培养瓶(5 个处理+5 个对照)用以检验密封效果。整个培养时间为 2 个月,基于前期土壤温度和含水量监测数据,培养温度为 10℃,采用差量法^[9]控制土壤含水量(45%)。于培养的 3、10、17、24、31、38、45d 和 52d 采集土壤样品,每次采集处理和对照各 5 瓶,去除杂质后用于土壤微生物生物量、丰度和磷脂脂肪酸测定。

1.3 微生物生物量测定

土壤微生物生物量碳(MBC)和氮(MBN)含量采用改进的氯仿熏蒸-K₂SO₄浸提法测定^[10]。称取 3 份 10g 土壤样品于 150mL 提取瓶中,放入真空干燥器,用去乙醇氯仿熏蒸 24h,除去氯仿取出,同时称取 3 份 10g 土壤样品作为未熏蒸对照。随后用 50mL 0.5mol/L K₂SO₄浸提,过滤后,再过 0.45μm 滤膜,滤液中的 C 和 N 采用总有机碳自动分析仪(TOC-VcPH+TNM-1, Shimazu Inc., Kyoto, Japan)测定。MBC 和 MBN 含量由熏蒸土壤和未熏蒸土壤提取的总有机 C 和全 N 的差值分别除以转换系数 0.45 和 0.54 得到^[11]。

1.4 微生物丰度测定

微生物丰度采用实时荧光定量 PCR 测定。土壤总 DNA 的提取采用北京天恩泽基因科技有限公司的 Soil DNA out 试剂盒按操作步骤进行。采用 1%琼脂糖凝胶电泳检测和 OMEGA E.Z.N.ATM Gel Extration Kit 试剂盒进行纯化。用琼脂糖凝胶电泳回收纯化后的总 DNA 作为模板,在 Bio-Rad iCycle PCR 中进行 qPCR 扩增。反应体系为:12.5μL SYBR[®] Premix ExTaqTM (TaKaRa), 0.5μL BSA (TaKaRa), 引物 0.4μL (连接使用不含 GC 夹的引物), 1μL 未稀释的总 DNA 作为模板,以灭菌的去离子水补足 25μL,每样品各 3 个重复。细菌引物: 341f, 534r;真菌引物: fung, NS1。反应结束以 2%的琼脂糖凝胶进行电泳检测。

qPCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳回收后,与 pMD19-T 载体连接(TaKaRa)并转入 *Escherichia coli* DH5α 感受态细胞。用 M13-47 和 RV-M 引物(TaKaRa)对进行菌落 PCR 扩增后,选取阳性克隆并用 OMEGA 公司的质粒提取试剂盒提取质粒供 qPCR 反应的标准曲线使用。质粒的浓度经 Biophotometer (Eppendorf) 检测,细菌和真菌的基因拷贝数通过质粒的浓度进行计算。用 10 倍梯度稀释的已知浓度的质粒 DNA 作为 qPCR 反应的模板来制作外标标准曲线。实时荧光定量 PCR 使用型号为 CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA) 仪分别对土壤真菌和细菌进行丰度测定。

运行程序:细菌 98℃ 预变性 30s, 98℃ 变性 1s, 55℃ 退火 5s, 72℃ 延伸 10s, 40 个循环, 溶解温度 65℃ to

95℃, 0.5℃ for 5s, $E=103.0\%$, $R^2=0.997$; 真菌 98℃ 预变性 30s, 98℃ 变性 5s, 55℃ 退火 5s, 40 个循环, 72℃ 延伸 10s, 溶解温度 65℃ to 95℃, 0.5℃ for 5s, $E=99.8\%$, $R^2=0.998$ 。

1.5 磷脂脂肪酸 (PLFAs) 的测定

土壤总脂质的提取参考杨林等^[12]的方法采用单相萃取。称取 1g 土壤样品装入 30mL 聚四氟乙烯玻璃管中, 依次加入 4.8mL PBS 缓冲液(磷酸钾缓冲液, pH=7.4)、12mL 甲醇、6mL 氯仿, 涡旋 30s, 超声均匀化 10min (37℃, 100HZ), 37℃ 水浴 30min, 冷却后加 PBS 缓冲液 6mL 和氯仿 6mL, 重复以上操作, 将两次提取液于 50mL 的分液漏斗中静置过夜。

取下层氯仿相, 先用有机纤维滤膜过滤, 旋转蒸发减少体积, 过活性硅胶柱。依次用 2mL 氯仿和 2mL 丙酮各 3 次除去非极性磷脂和糖脂。将甲醇 (3×2mL) 洗脱的极性磷脂用 N₂ 吹干, 残余物用碱性甲醇分解后冷却, 用 1mol/L 乙酸中和, 生成的 FAMES (脂肪酸甲酯) 再采用 2mL 氯仿: 己烷 (v/v 1:4) 提取, 氮气吹干, 溶解于氯仿: 己烷 (体积比 1:4) 中, 以十九烷酸甲基酯 (19:0) 为内标物。将提取的待测液上机测定, 选取 15—21 个碳链长度的脂肪酸甲酯进行分析分别定性定量。GC-MS 条件: 不分流进样, 进样口温度 300℃, 初始温度 60℃, 保持 1min, 升温程序, 以 30℃/min 升至 150℃, 保持 4min, 以 4℃/min 升至 250℃, 保持 15min。最后升至以 25℃/min 升至 300℃, 保持 6min。接口温度 280℃, 氮气作载气, 流量为 0.8mL/min。

1.6 统计与分析

使用 Origin 9.3 软件制图。由 SPSS 20.0 软件进行数据统计。采用重复测量方差分析 (repeated measures ANOVA) 检验对照和处理对采样时间及其交互作用对土壤微生物的影响, 采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和最小显著差异法 (LSD) 检验各变量在不同处理或采样时间的差异, 显著性水平设为 $P=0.05$ 。

2 结果

2.1 土壤微生物量

整个培养期间, 茶处理和对照的微生物量碳 (MBC) 含量均表现为降低趋势, 以培养 52d 最低; 微生物量氮 (MBN) 含量表现出先升高后降低的动态, 以培养的 17d 最高; 微生物量碳氮比 (MBC/MBN) 表现出先降低后升高的动态变化趋势, 以培养的 17d 最低 (图 1)。茶处理并未显著影响 MBC、MBN 和 MBC/MBN 动态, 但茶处理和采样时间的交互作用对 MBC/MBN 动态有显著影响 (表 1)。

表 1 茶处理和采样时间对川西亚高山森林土壤微生物生物量、丰度、磷脂脂肪酸的重复测量方差分析

Table 1 Repeated measures ANOVA for soil microbial biomass, microbial abundance and microbial phospholipid fatty acids to naphthalene treatment and sampling time

指标 Index	茶处理 Naphthalene treatment		采样时间 Sampling date		茶处理×采样时间 Naphthalene treatment × Sampling date	
	F	P	F	P	F	P
微生物生物量碳 MBC	0.06	0.818	5.16	<0.001 **	0.36	0.940
微生物生物量氮 MBN	1.03	0.339	6.07	<0.001 **	0.12	0.999
微生物生物量碳氮比 MBC/MBN	0.16	0.707	12.42	<0.001 **	2.44	0.035 *
细菌丰度 Bacteria abundance	0.85	0.410	113.74	<0.001	6.92	<0.001 **
真菌丰度 Fungi abundance	4.38	0.081	55.60	<0.001	0.77	0.614
真菌/细菌丰度 Fungi/bacteria abundance	5.17	0.108	6.93	<0.001 **	7.21	<0.001 **
细菌磷脂脂肪酸 Bacteria PLFAs	4.58	0.099	20.68	<0.001 **	4.59	0.002 **
真菌磷脂脂肪酸 Fungi PLFAs	0.36	0.593	9.38	<0.001 **	5.92	0.001 **
真菌/细菌磷脂脂肪酸 Fungi/bacteria PLFAs	0.36	0.570	2.35	0.040 *	2.78	0.018 *
革兰氏阳性菌磷脂脂肪酸 G ⁺ PLFAs	6.65	0.061	56.30	<0.001 **	3.57	0.007 **
革兰氏阴性菌磷脂脂肪酸 G ⁻ PLFAs	7.58	0.051	4.82	0.001 **	3.45	0.009 **
革兰氏阳性菌/阴性菌磷脂脂肪酸 G ⁺ /G ⁻ PLFAs	10.85	0.017 *	8.87	<0.001 **	2.99	0.012 *

MBC, 微生物生物量碳, microbial biomass carbon; MBN, 微生物生物量氮, microbial biomass nitrogen; PLFAs, 磷脂脂肪酸, phospholipid fatty acids; * $P<0.05$, ** $P<0.01$

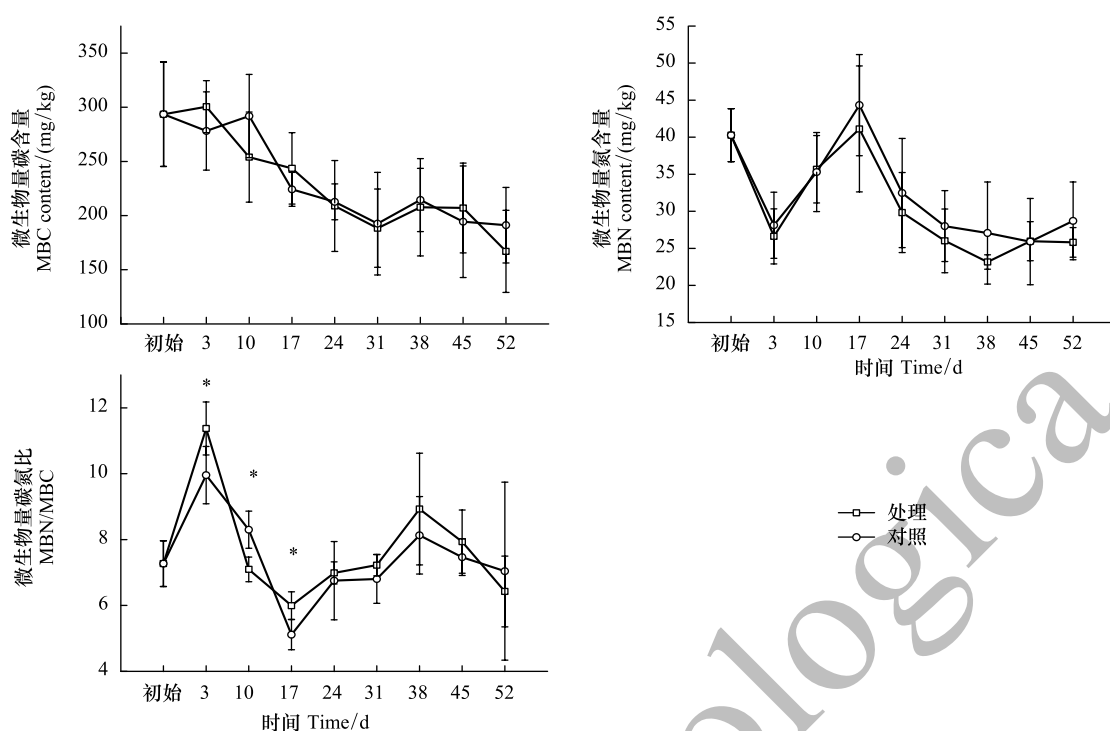


图1 川西亚高山森林土壤加入萘培养 52d 期间土壤微生物量碳、微生物量氮及微生物碳氮比的动态变化

Fig.1 Dynamic change in soil microbial biomass carbon (MBC), soil microbial biomass nitrogen (MBN) and MBC/MBN ratio during the 52 days application of naphthalene in the subalpine forest of western Sichuan

2.2 土壤微生物丰度

整个培养的期间,萘处理和对照的细菌丰度整体表现为先降低后升高的趋势,在培养 17d 至 24d 急剧降低;萘处理和对照的真菌丰度整体呈现降低的趋势,在培养 3d 至 10d 期间快速下降;萘处理和对照的真菌/细菌丰度比呈现出先降低后升高再降低的趋势,二者均以培养的 10d 最低(图 2)。萘处理对细菌和真菌丰度以及真菌/细菌丰度比的影响不显著,萘处理与采样时间的交互作用对细菌丰度、真菌/细菌丰度比影响显著(表 1)。

2.3 土壤微生物 PLFAs

由图 3 可见,萘处理和对照的细菌、真菌、革兰氏阳性菌(G^+)和革兰氏阴性菌(G^-)的 PLFAs 含量表现为降低的趋势,细菌、真菌和 G^- PLFAs 含量以培养的 45d 最低, G^+ PLFAs 含量以培养 52d 最低。对照的真菌/细菌 PLFAs 含量比值呈现先升高后降低的动态,以培养的 17d 最高,但萘处理的真菌/细菌 PLFAs 含量比值无明显变化规律。萘处理的 G^+/G^- PLFAs 含量比值表现为降低的趋势,以培养 3d 最高,对照的 G^+/G^- PLFAs 比值表现为先降低后升高的趋势(培养结束除外)。萘处理仅对 G^+/G^- PLFAs 比值有显著影响,但萘处理和采样时间的交互作用对微生物各组分的 PLFAs 含量均有显著影响(表 1)。

3 讨论

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,是生态系统养分循环不可或缺的驱动力^[2]。已有研究表明,土壤微生物量是土壤养分的重要来源和周转库,其变化过程能有效反映土壤的肥力状况和土壤生态环境变化^[13-14]。虽然土壤微生物生物量碳(MBC)只占土壤总有机碳的 1%—3%,但这一部分有机碳调控着所有进入土壤的有机质转化,是整土壤个生态系统养分和能源循环的“关键”和“动力”^[15],而土壤微生物量氮(MBN)作为土壤有效氮活性库的主要部分也是土壤 N 素循环的重要载体^[16]。通常地,土壤中施入的持久性有机物、重金属、化学肥料等污染物会显著影响土壤微生物生物量。夏庆兵等^[17]研究发现,邻苯二甲酸二脂

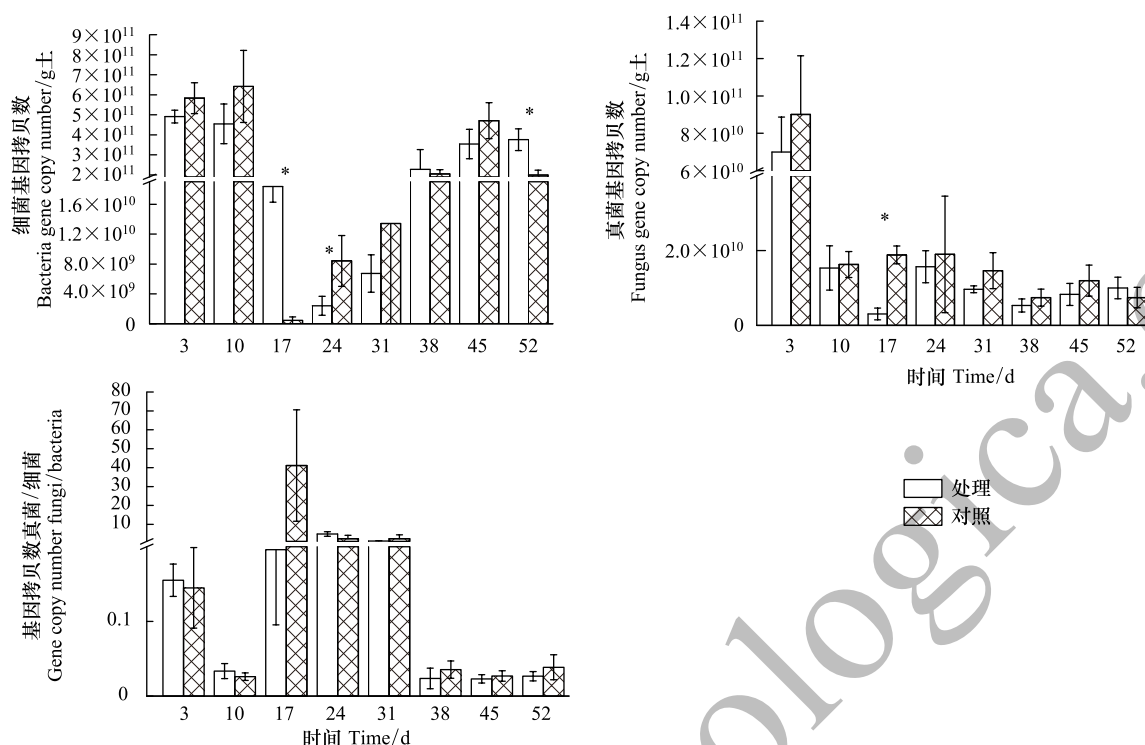


图2 川西亚高山森林土壤加入萘培养 52d 期间土壤微生物丰度的动态变化

Fig.2 Dynamic changes in soil microbial abundance during the 52 days application of naphthalene in the subalpine forest of western Sichuan

(DEHP)胁迫下的土壤微生物量碳和生物量氮均受到刺激,且随 DEHP 浓度的增加均呈先升高后降低的趋势。Guo 等^[18]为期 7 年的实验结果显示,土壤施用硝化抑制剂双氰胺(DCD)对土壤微生物生物量碳氮影响不显著。Xiong 等^[19]研究表明,30g/m²和 100g/m²的萘施用量并未影响亚热带灌丛土壤微生物量碳,但 200g/m²的萘施用量表现出显著促进作用。与 Xiong 等^[19]的实验结果一致,本研究中,100g/m²的萘施用量并未显著影响土壤微生物 MBC 和 MBN 含量,萘处理和对照的微生物量碳氮具有相似的动态变化(图 1 和表 1)。其原因可能是:萘处理下,一方面,对环境敏感的微生物种群种类和数量下降,它们对微生物生物量的减少起主要贡献^[7,9];另一方面,具有有机物降解或耐受能力的微生物种群在此环境下大量繁衍,它们促进了微生物生物量的增加^[5,20]。值得注意的是,微生物生物量碳氮比(MBC/MBN)在培养前期(3—17d)受萘处理显著影响。这表明微生物群落能对环境干扰敏感响应,然而,这种短期的环境干扰效应刺激会随着微生物群落结构重组和适应逐渐减退,因而至培养后期 MBC/MBN 表现出相似动态变化。

已有研究表明,作为土壤微生物的两大类群,细菌和真菌丰度对外界环境的响应有助于反映土壤微生物质量状况^[2,8]。冯波等^[21]研究发现,杀菌剂百菌清处理土壤会显著抑制了细菌数量,但对真菌数量影响不显著;王志刚等^[22]研究表明,不同浓度的 DEHP 污染都显著抑制了细菌数量,对真菌数量的影响或促进和对对照无明显差异;Blair 等^[7]研究指出,萘处理显著增加了亚热带森林土壤细菌数量,降低了 FDA 真菌菌丝长度;Colinas 等^[23]研究认为,萘处理并未对玉米农田生态系统土壤细菌、真菌及原生动物数量产生非目标效应,其对真菌生物量和活性的增加是因为食物链上菌食性线虫和节肢动物数量降低的间接作用原因。本研究中,萘处理对土壤细菌、真菌丰度动态均无显著影响,但萘处理和采样时间的交互作用对细菌的丰度影响显著(图 2 和表 1)。这与 Colinas 等^[23]的研究结果一致,但与 Blair 等^[7]的研究结果不同,这可能是植被系统和土壤类型差异的原因。同时,本研究中,培养前期(10d),处理和对照的真菌丰度急剧下降,然后保持平稳。这是因为细菌对环境的变化较为敏感^[24]、供试土壤的 pH 近于中性的土壤环境有利于其生长与繁殖的原

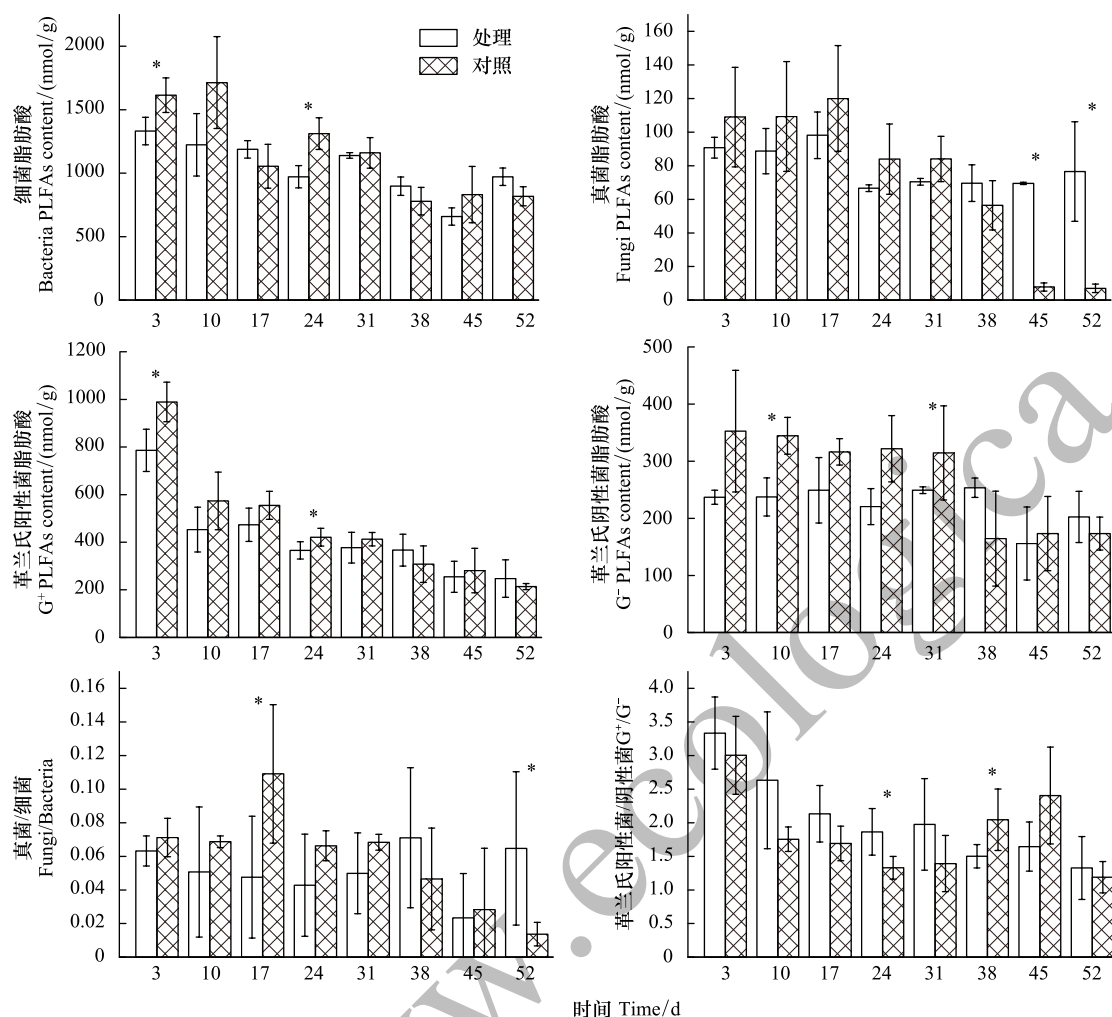


图3 川西亚高山森林土壤加入萘培养 52d 期间土壤磷脂脂肪酸的动态变化

Fig.3 Dynamic changes in soil PLFAs during the 52 days application of naphthalene in the subalpine forest of western Sichuan

因^[2,24]。此外,真菌对环境的耐受能力较强,真菌不仅能分解有机污染物,使之无害化,还能使重金属及无机离子价态改变,进而可增强或减弱其对动、植物毒性,且某些种类真菌能将一些污染物当成营养物来利用^[25]。因此,萘处理初期并未显著影响真菌,而细菌对环境变化响应快可以解释环境中萘降解下土壤微生物基因丰度的动态变化。

磷脂脂肪酸(PLFAs)是活体细胞膜的主要成分,在维持细胞流质、营养运输、消除代谢产物等方面起着重要作用^[26],其组分变化可较准确地表达土壤微生物的类群及其生物量环境干扰的响应。张好等^[27]研究表明,除草剂二氯喹啉酸对土壤细菌的总 PLFAs 有一定抑制作用,对真菌有一定促进作用,但对真菌/细菌无显著影响;谢登科等^[28]研究指出,十溴联苯醚(BDE-209)胁迫对以 PLFAs 表征的土壤细菌、真菌、放线菌和总微生物量都有显著的影响,且细菌对 BDE-209 更敏感,革兰氏阳性细菌(G^+)更容易存活,真菌对 BDE-209 耐受更强;Cotrufo 等^[6]的原位培养试验发现,而原位培养实验则发现萘处理并未影响真菌和细菌的总 PLFAs 丰度,仅对革兰氏阴性细菌(G^-)总 PLFAs 丰度造成显著影响。与 Cotrufo 等^[6]的研究一致,本研究中,萘处理并未对细菌、真菌、 G^+ 、 G^- 的 PLFAs 和真菌/细菌 PLFAs 比值造成显著影响,而对 G^+/G^- PLFAs 比值造成显著影响。采样时间和萘处理的交互作用对上述的微生物的 PLFAs 都有显著的影响(图 3 和表 1)。其原因是:在萘处理下,不同组分的微生物都对环境干扰产生一定的响应,由于部分耐受性低的微生物群落受萘处理影响短期内大量死亡,造成微生物数量降低^[26-27]。而微生物死亡释放的碳和养分等可被存活的土壤微生物作为有

效基质直接利用或间接利用,造成微生物数量增加^[9,13]。从而促进萘处理环境中土壤微生物群落结构的快速调整,因而对微生物群落结构的影响不显著。而 G^+/G^- 比值影响显著的原因是某些革兰氏菌在培养期间内调整失衡^[15,27],但是随着微生物群落结构重组和适应逐渐减退 G^+/G^- 比值处理和对照呈现相同的变化趋势,这表明革兰氏细菌对萘的非目标效应响应更敏感。然而,这种短期的环境干扰效应刺激会随着微生物群落结构重组和适应逐渐减退。值得注意的是,在培养末期(45d 和 52d),对照组含真菌 PLFAs 显著降低,而处理组并未出现相似的动态变化,这可能是萘处理组输入的碳源输入被的真菌转化利用的结果。

综上所述,短期的培养实验显示,萘对川西亚高山森林土壤微生物生物量、丰度和磷脂脂肪酸特征造成了不同程度的影响。萘作为驱虫剂的非目标效应在短期内仅对 G^+/G^- PLFAs 比值造成显著影响,但萘处理和采样时间的交互作用对 MBC/MBN、细菌丰度、真菌/细菌丰度比以及细菌、真菌、 G^+ 、 G^- 、真菌/细菌、 G^+/G^- 的 PLFAs 含量产生都显著影响,因此,萘作为土壤动物抑制剂对川西亚高山森林土壤微生物群落的非目标效应具有时间变异性。值得注意的是,由于室内模拟的局限性,缺乏地上部分植被的参与,这种存在非目标效应在野外控制试验中是否同样存在有待研究。

参考文献 (References):

- [1] Crowther T W, Stanton D W G, Thomas S M, A'Beir A D, Hiscox J, Jones T H, Voříšková J, Baldrian P, Boddy L. Top-down control of soil fungal community composition by a globally distributed keystone consumer. *Ecology*, 2013, 94(11): 2518-2528.
- [2] 李延茂, 胡江春, 汪思龙, 王书锦. 森林生态系统中土壤微生物的作用与应用. *应用生态学报*, 2004, 15(10): 1943-1946.
- [3] Bardgett R D, van der Putten W H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, 2014, 515(7528): 505-511.
- [4] Walker D M, Lawrence B R, Esterline D, Graham S P, Edelbrock M A, Wooten J A. A metagenomics-based approach to the top-down effect on the detritivore food web: a salamanders influence on fungal communities within a deciduous forest. *Ecology and Evolution*, 2014, 4(21): 4106-4116.
- [5] Gebremikael M T, Buchan D, De Neve S. Quantifying the influences of free-living nematodes on soil nitrogen and microbial biomass dynamics in bare and planted microcosms. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70(6): 131-141.
- [6] Cotrufo M F, Soong J, Vandegehuchte M L, Nguyen T, Denef K, Shaw E A, Sylvain Z A, de Tomasel C M, Nielsen U N, Wall D H. Naphthalene addition to soil surfaces: a feasible method to reduce soil micro-arthropods with negligible direct effects on soil c dynamics. *Applied Soil Ecology*, 2014, 74(1): 21-29.
- [7] Blair J M, Crossley D A Jr, Rider S. Effects of naphthalene on microbial activity and nitrogen pools in soil-litter microcosms. *Soil Biology and Biochemistry*, 1989, 21(4): 507-510.
- [8] Nyssönen M, Piskonen R, Itävaara M. A targeted real-time PCR assay for studying naphthalene degradation in the environment. *Microbial Ecology*, 2006, 52(3): 533-543.
- [9] 杨帆, 杨万勤, 吴福忠, 王惠, 蓝丽英, 刘育伟, 郭彩虹, 谭波. 萘对川西亚高山森林土壤呼吸、养分和酶活性的影响. *应用生态学报*, 2017, 28(6): 1779-1785.
- [10] Edwards A K, McCulloch J, Kershaw P G, Jefferies L R. Soil microbial and nutrient dynamics in a wet Arctic sedge meadow in late winter and early spring. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(9): 2843-2851.
- [11] 曹瑞, 吴福忠, 杨万勤, 徐振锋, 谭波, 王滨, 李俊, 常晨晖. 海拔对高山峡谷区土壤微生物生物量和酶活性的影响. *应用生态学报*, 2016, 27(4): 1257-1264.
- [12] 杨林, 陈亚梅, 和润莲, 邓长春, 刘军伟, 刘洋. 高山森林土壤微生物群落结构和功能对模拟增温的响应. *应用生态学报*, 2016, 27(9): 2855-2863.
- [13] 刘发林. 模拟火干扰对森林土壤微生物活性及氮矿化的影响. *生态学报*, 2017, 37(7): 2188-2196.
- [14] 周嘉聪, 刘小飞, 郑永, 纪宇铄, 李先锋, 徐鹏程, 陈岳民, 杨玉盛. 氮沉降对中亚热带米槠天然林微生物生物量及酶活性的影响. *生态学报*, 2017, 37(1): 127-135.
- [15] 周正虎, 王传宽. 帽儿山地区不同土地利用方式下土壤-微生物-矿化碳氮化学计量特征. *生态学报*, 2017, 37(7): 2428-2436.
- [16] 王宁, 杨雪, 李世兰, 王楠楠, 韩冬雪, 冯富娟. 不同海拔红松混交林土壤微生物量碳、氮的生长季动态. *林业科学*, 2016, 52(1): 150-158.
- [17] 夏庆兵, 王军, 朱鲁生, 王金花, 刘文军. 土壤微生物对邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯胁迫的生态响应. *农业环境科学学报*, 2016, 35(7): 1344-1350.

- [18] Guo Y J, Di H J, Cameron K C, Li B W, Podolyan A, Moir L J, Monaghan M R, Smith L C, O'Callaghan M, Bowatte S, Waugh D, He J Z. Effect of 7-year application of a nitrification inhibitor, dicyandiamide (DCD), on soil microbial biomass, protease and deaminase activities, and the abundance of bacteria and archaea in pasture soils. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, 13(4): 753-759.
- [19] Xiong Y M, Shao Y H, Xia H P, Li Z A, Fu S L. Selection of selective biocides on soil microarthropods. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(10): 2706-2709.
- [20] Zhang J S, Guo J F, Chen G S, Qian W. Soil microbial biomass and its controls. *Journal of Forestry Research*, 2005, 16(4): 327-330.
- [21] 冯波, 单敏, 方华, 王晓, 楚小强, 虞云龙. 百菌清对土壤微生物数量和酶活性的影响. *农业环境科学学报*, 2006, 25(3): 674-677.
- [22] 王志刚, 胡云龙, 徐伟慧, 莫继先, 李珊珊, 张志, 杨志宏. 邻苯二甲酸二甲酯污染对黑土微生物丰度和多样性的影响. *生态与农村环境学报*, 2015, 31(5): 779-783.
- [23] Colinas C, Ingham E, Molina R. Population responses of target and non-target forest soil organisms to selected biocides. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26(1): 41-47.
- [24] 冯书珍, 苏以荣, 张伟, 陈香碧, 何寻阳. 坡位与土层对喀斯特原生林土壤微生物生物量与丰度的影响. *环境科学*, 2015, 36(10): 3832-3838.
- [25] 李晨华, 贾仲君, 唐立松, 吴宇澄, 李彦. 不同施肥模式对绿洲农田土壤微生物群落丰度与酶活性的影响. *土壤学报*, 2012, 49(3): 567-574.
- [26] 冯慧敏, 何红波, 白震, 武叶叶, 郭柏栋, 张明, 张旭东. 乙草胺的微生物降解及其对土壤磷脂脂肪酸特性的影响. *应用生态学报*, 2008, 19(7): 1585-1590.
- [27] 张妤, 郭爱玲, 崔烨, 冯莉, 田兴山, 吴丹丹. 培养条件下二氯喹啉酸对土壤微生物群落结构的影响. *生态学报*, 2015, 35(3): 849-857.
- [28] 谢登科, 符安, 林耀东, 秦华明, 莫测辉. BDE-209 对土壤微生物 PLFAs 特性的影响. *农业环境科学学报*, 2015, 34(3): 478-484.