

DOI: 10.5846/stxb201805251150

刁婵, 鲁显楷, 田静, 张永清, 莫江明, 于贵瑞. 长期氮添加对亚热带森林土壤微生物碳源代谢多样性的影响及机制. 生态学报, 2019, 39(18):

Diao C, Lu X K, Tian J, Zhang Y Q, Mo J M, Yu G R. Effects of long-term nitrogen addition on the metabolic diversity of microbial carbon sources in subtropical forest soils. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(18):

长期氮添加对亚热带森林土壤微生物碳源代谢多样性的影响及机制

刁 婵^{1,2}, 鲁显楷³, 田 静^{1,*}, 张永清², 莫江明³, 于贵瑞¹

1 中国科学院地理科学与资源研究所, 生态系统网络观测与模拟重点实验室, 北京 100101

2 山西师范大学, 地理科学学院, 临汾 041000

3 中国科学院华南植物园, 中科院退化生态系统植被恢复与管理重点实验室, 广州 510650

摘要: 土壤微生物功能多样性对维持生态系统功能和稳定性具有非常重要的意义。人类活动造成全球氮沉降量激增, 会引起土壤微生物群落结构和功能的改变, 但是目前有关亚热带森林生态系统土壤微生物碳源利用多样性对模拟 N 沉降的响应还不是很清楚。本研究依托位于鼎湖山的长达 15 年的长期野外模拟氮沉降试验样地平台, 借助 Biolog-Eco 微平板技术, 分析探讨了不同 N 添加量对季风常绿阔叶林中土壤微生物群落碳代谢功能多样性的影响差异及机制。研究结果表明: (1) 与对照相比, 长期低 N、中 N 和高 N 量添加使土壤微生物碳源代谢活性 (AWCD) 分别显著降低了 15.3%、32.9% 和 38.0%; 并且显著降低了微生物碳源利用 Shannon 多样性指数和丰富度指数; (2) 微生物对糖类、羧酸、氨基酸、胺类和酚酸类的利用随着施 N 水平的提高而显著降低; 其中胺类最为敏感, 长期高 N 添加下其利用强度与对照相比显著降低了 80.2%; (3) 主成分分析表明, 不同 N 添加水平显著影响了土壤微生物碳源利用 ($P=0.001$); (4) 分类变异分析表明, 土壤和植物因素可解释不同 N 水平下碳源利用差异的 90.7%; (5) 典型对应分析发现, 土壤 pH ($P=0.009$) 是解释不同 N 水平添加处理间土壤微生物碳源代谢多样性差异的主要环境因子; 而植被丰富度和凋落物量没有显著影响。综上所述, 长期不同 N 添加显著影响了亚热带森林土壤微生物碳源代谢多样性, 并且结果表明土壤 pH 是影响碳源利用多样性的主要影响因素。研究结果对于揭示全球变化影响下热带森林生态系统地下生物多样性维持机制提供了重要理论依据。

关键词: 氮沉降; 碳源利用多样性; Biolog; 季风林

Effects of long-term nitrogen addition on the metabolic diversity of microbial carbon sources in subtropical forest soils

DIAO Chan^{1,2}, LU Xiankai³, TIAN Jing^{1,*}, ZHANG Yongqing², MO Jiangming³, YU Guirui¹

1 Key Laboratory of Ecosystem Network Observation and Modeling, Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, Chinese Academy of Sciences, 100101, Beijing, China

2 College of geographical sciences, Shanxi Normal University, 041000, Linfen, China

3 Key laboratory of vegetation restoration and management of degraded ecosystems, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, 510650, China

Abstract: Soil microbial functional diversity plays an important role in maintaining the function and stability of the ecosystem. The rapid increase in global nitrogen deposition caused by human activity will cause changes in the structure and function of the soil microbial community. However, we know very little about how elevated N inputs over the long-term will

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31770560, 41571130041, 41731176) 和国家重点研发项目 (2017YFA0604803)

收稿日期: 2018-05-25; **网络出版日期:** 2019-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: tianj@igsnrr.ac.cn

influence microbial carbon source utilization diversity in tropical forests. We investigated the soil microbial community diversity of carbon metabolism and their driving factors based on a 15-year long field experiment monitoring different N levels at the Dinghushan biosphere reserve station using Biolog-Eco microplate technology. The results showed that: (1) compared with the control, carbon metabolic activity (AWCD) significantly decreased by 15.3%, 32.9% and 38.0% under low, medium, and high N treatments, respectively. In addition, the Shannon diversity and richness indexes significantly decreased after N application; (2) The utilization of carbohydrate, carboxylic acids, amino acids, amines, and phenolic acids significantly declined with increasing applications of N. Of these, amines showed the strongest response, and the intensity of their utilization reduced significantly by 80.2% after long-term high N addition. (3) The principal component analysis showed that there were significant differences in the microbial utilization of carbon at different N levels ($P = 0.001$); (4) The variation partitioning analysis showed that soil and plant factors explained 90.7% of the variations in microbial carbon source metabolism. (5) The canonical correspondence analysis (CCA) showed that soil pH ($P = 0.009$) was the most important environmental factor influencing variations in the utilization of microbial carbon sources in different N treatments. However, plant richness and litterfall had no significant effect on utilization. Thus, our study suggests that N addition over the long-term significantly alters the diversity of soil microbial carbon source utilization in subtropical forests with soil pH as the main influencing factor. The results of this study provides an important theoretical basis for understanding belowground diversity of subtropical forests under global climatic changes.

Key Words: Nitrogen deposition; Carbon sources use diversity; Biolog; Monsoon forest

大气氮(N)沉降是陆地生态系统重要的 N 输入过程,对维持生态系统 N 平衡和生产力至关重要^[1]。然而,人类活动加速了 N 的输入过程,据估计,过去 145 年(1860—2005),全球 N 沉降增加了近 3 倍,并预计到 2050 年将达到 200 Tg N a⁻¹^[2]。大量研究证实大气 N 沉降的频繁输入会引起土壤呼吸、养分矿化与固定、土壤微生物分解等一系列生态过程不同程度的变化^[3-4]。而这些变化加速又改变着土壤微生物多样性以及土壤养分循环^[5-6]。

土壤微生物作为土壤生态系统重要的组成部分,推动着生物地球化学循环与转化,是衡量土壤肥力与健康的关键指标^[7-8],因此微生物多样性对土壤质量及生态系统稳定性具有重要意义。大量研究表明,N 沉降会显著影响土壤微生物量和群落结构^[9-14]。目前研究发现土壤微生物量对 N 沉降具有增加^[11]、减少^[12-13]或不变^[14]等 3 种响应。微生物功能多样性信息对于明确不同环境中微生物群落的作用具有重要意义^[15]。其中以 BIOLOG 微孔板碳源利用为基础的定量分析描述了微生物对不同种类碳源的利用多样性,被证明是研究微生物群落代谢功能多样性的一种简单和快速的方法^[15]。目前研究发现氮沉降增加会引起土壤微生物对底物的利用模式改变。例如,Johnson 等^[16]在欧石南丛生的荒地中的研究发现,氮增加造成了微生物对底物的利用率提高了 3 倍;但在酸性的草地中则相反,土壤微生物对氮增加的响应表现为降低对碳源的利用率。Frey 等^[12]在美国哈佛森林氮添加实验发现,阔叶林和混交林土壤微生物对底物的利用率与氮增加并没有明显的关系。这些研究的差异性可能和研究区域,施 N 时间以及各区域的土壤植被环境条件有很大关系^[17-19]。比如研究发现土壤微生物对不同碳源的利用情况对外界环境变化比较敏感,会受到多种生物和非生物因素的影响^[15,20-23]。例如 Blagodatskaya EV 等^[20]发现 pH 是影响土壤微生物对碳源的利用活性的重要影响因子。陈法霖等^[18]通过对南方红壤丘陵区的研究发现,针—阔混合凋落物比单一针叶凋落物更有利于提高土壤微生物群落的碳源利用能力。亚热带森林作为重要的可再生经济资源,其对涵养水源、保持水土、温室气体预算和维持生物多样性方面具有非常重要的贡献^[24]。但是随着经济社会发展水平的提升,过量的 N 输入显著影响了热带和亚热带森林的生物地球化学循环,比如土壤酸化、水体富营养化、林蓄积量下降以及 P 元素限制加剧等一系列问题^[25-26]。虽然近年来 N 沉降对亚热带和热带森林生态系统微生物影响的研究越来越多^[24,27-28],但总体上来说研究的时间尺度比温带森林短得多。比如,Cusack 等^[27]以 Luquillo 试验林中的热带

雨林和山地森林为例分析了 N 添加对土壤微生物群落特征的影响。袁颖红等^[25]探讨了福建省杉木人工林中土壤微生物功能多样性对 N 添加响应。因此,加强亚热带森林生态系统长期 N 输入对土壤微生物功能影响的研究,将有助于帮助我们对 N、P 养分循环等生态系统关键过程的调控,以及对森林生态系统功能动态变化的预测。

本研究以鼎湖山季风常绿阔叶林(以下简称“季风林”)为研究对象,基于已有的长期野外模拟 N 沉降试验样地平台,运用 Biolog 微平板技术研究了长期 N 添加对土壤微生物碳源代谢多样性变化的规律,同时探讨了微生物碳源代谢多样性与环境因子之间的相关关系。研究结果可为热带森林生态系统应对全球变化提供重要理论依据,同时对于推动森林生态系统可持续发展和加强对其管理和功能调控也具有重要的科学意义。

1 材料与方法

1.1 样地概况与设计

本研究位于广东省中部的鼎湖山自然保护区(112°33'E, 23°10'N),属于亚热带季风气候。年均温为 21.4°C,最冷月(1 月)和最热月(7 月)的均温分别为 12.6°C 和 28.0°C。年均降雨量为 1927mm,约有 3/4 集中在 3—8 月。气温及降水具有明显的季节性特征。土壤类型为由泥盆纪厚层变质砂岩、砂页岩发育而成的不同深度的氧化土(土壤深度超过 60cm)^[29-30]。季风林为本地典型的地带性植被,其乔木层的主要物种有锥栗(*Castanopsis chinensis*)、荷木(*Schima superba*)、厚壳桂(*Cryptocarya chinensis*)、黄果厚壳桂(*Cryptocarya concinna*)、华润(*Machilus chinensis*)等;而灌木层则以柏拉木(*Blastus cochinchinensis*)、九节(*Psychotria rubra*)、光叶山黄皮(*Randia canthioides*)等可耐阴植物类型占比较高^[30-31]。建立样地之初,各小区植被物种组成不存在显著差异。

该研究区域从 1990 年以来氮沉降问题日趋严重($>30 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$),根据观测,2009—2010 年,该区域全年 N 湿沉降量和干沉降量分别为 $34.4 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 和 $14.2 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ ^[32]。结合本地氮沉降情况,本研究设计了 4 个 N 水平处理^[29],分别包括:对照(Control: $0 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$)、低氮(Low N: $5 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$)、中氮(Mediate N: $10 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$)、高氮(High N: $15 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$)。自 2003 年 7 月开始,以 NH_4NO_3 为氮源,每月月初以溶液的形式喷洒到样地地面,全年平均喷施,并在整个研究期间持续进行。根据氮处理水平的需要,将每个样方每次所需要喷施的 NH_4NO_3 溶解在 20L 水中,对照(CK)、低氮(LN)、中氮(MN)、高氮(HN)四个处理溶液的浓度分别为 0、0.3、0.6 和 0.9 mol N/L。然后以背式喷雾器人工来回均匀喷洒在林地上,喷洒高度 1.5m 左右(为了确保肥料的均匀分布,在每个地块上都有两条路径)。对照样方则喷洒等量的水。

1.2 土壤样品的采集与处理

2015 年 10 月在季风林中每个样方内进行采样(12 个样方)。每个样方内利用“五点混合法”用土钻(直径 4cm)采集 0—10cm 的土壤,然后 4°C 低温保存运往实验室。将用于测定土壤无机氮和可溶性有机碳(DOC)浸提以及 Biolog 实验的土壤 4°C 保存,并于一周内完成测定;其余土样风干并用于土壤理化性质的测定。

1.3 试验方法

1.3.1 土壤理化性质的测定

土壤含水量用烘干法;土壤 pH 用水浸提电位法(水土比为 2.5:1);土壤全氮(TN)用元素分析(ElementarVario EL III)测定;全磷(TP)采用硫酸—高氯酸消解钼蓝比色法测定;有效磷(AP)采用盐酸—氟化铵提取—流动注射分析仪(FIAstar 5000, FOSS, Denmark)测定;可溶性有机碳(DOC)根据 Jones 方法^[33]测定,用日本岛津公司 TOC-VCPH 型分析仪分析。土壤硝态氮($\text{NO}_3^- \text{-N}$)和铵态氮($\text{NH}_4^+ \text{-N}$)含量用流动分析仪(Futura)测定。凋落物量测定方法为在每个样地随机设置两个 $1 \times 1 \text{ m}$ 的凋落物框(每个距地面 0.5m,凋落物网的孔径为 1mm)。每月月初收集一次凋落物,称出鲜重,然后置于 60°C 干燥箱中烘干至恒重,称重。本研究中我们采用的是单位样方面积上的年凋落量平均值。

1.3.2 土壤微生物碳源利用测定分析

土壤微生物群落碳代谢多样性采用 Biolog 方法进行^[34]:在超净工作台中,称取 10g 鲜土置于无菌锥形瓶

中,加入 90 ml 85%灭菌 NaCl 溶液,封口后,振荡 30min(250 r/min)。静置 10min 后取 5mL 上清液,将溶液稀释 1000 倍。最后用 8 通道移液器将上述稀释液加到 Biolog-ECO 微平板(Biolog, Hayward, USA)的每个孔中,每孔 150 μ l。将接种好的 Biolog-ECO 微平板于 25 $^{\circ}$ C 条件下培养,分别于 0、12、24、36、48、60、72、96、120、144、168h 在微孔板读数仪(Biolog, Inc, USA)上读取 590nm 波长下的吸光值。Biolog-Eco 平板测定的每孔颜色平均变化率(average well color development, AWCD),用来表示微生物群落利用单一碳源的能力即微生物的整体代谢活性,计算公式如下^[35]:

$$AWCD = \sum \frac{(C - R)}{n}$$

式中, C 为有碳源的每个孔的光密度值, R 为对照孔的光密度值, n 为碳源的数目,Biolog-Eco 板的 C 源数目为 31^[36]。

本研究采用培养 72 小时光密度值分析土壤微生物群落功能多样性,计算公式如下^[37]:

Shannon-Wiener 多样性指数

$$H' = - \sum_{i=1}^s P_i \ln P_i$$

丰富度指数 S = 被利用碳源的总数目 ($C-R>0.2$ 的孔数)

$$\text{Shannon-Weiner 均匀度指数 } E = \frac{H'}{\ln S}$$

式中, $P_i = (C - R) / \sum (C - R)$ 表示第 i 个孔的相对吸光值与整个微平板相对吸光值总和的比值。

1.4 数据统计分析

不同处理下土壤微生物功能多样性指数和碳源利用强度的差异用 LSD 检验确定(SPSS22.0)。在 Canoco for Windows 5.0 软件中,利用培养 96h 的 AWCD 数据对不同 N 处理下土壤微生物碳源代谢多样性进行主成分分析(PCA)。用非参数的多元方差分析(PERMANOVA)检验不同 N 水平处理下土壤微生物碳源代谢多样性的差异。对季风林中环境因子和培养 96h 的 AWCD 数据进行典型对应分析(CCA)和方差分解分析(VPA),探讨环境因子对微生物碳源代谢多样性的影响。其中 CCA 和 VPA 通过 R 语言“*vegan*”程序包进行。

2 结果

2.1 长期不同 N 量添加对土壤微生物碳源代谢活性影响

由图 1 所知,随着培养时间的延长,不同 N 水平处理下的平均吸光值(AWCD)值均呈现出逐渐增加的变化趋势,并且曲线为平滑的“S”型曲线。0—24h,土壤微生物的 AWCD 值缓慢变化;24—96h AWCD 值快速增长,随后增长变缓慢,在 96h 后趋于平缓。在整个培养过程中,季风林中 AWCD 值的大小顺序为:CK>LN>MN $\approx$ HN。对整个培养过程做重复性方差分析发现:与 CK 相比,长期 MN($P=0.024$)和 HN($P=0.015$)处理显著降低了土壤微生物碳源代谢活性(AWCD)。

2.2 长期不同 N 量添加对不同碳源利用强度以及多样性影响

Biolog-Eco 板中含有 31 种碳源,包括糖类(7 种)、羧酸类(9 种)、氨基酸类(6 种)、胺类(2 种)、聚合物类(4 种)、酚酸类(3 种)。不同 N 水平添加处理下土壤微

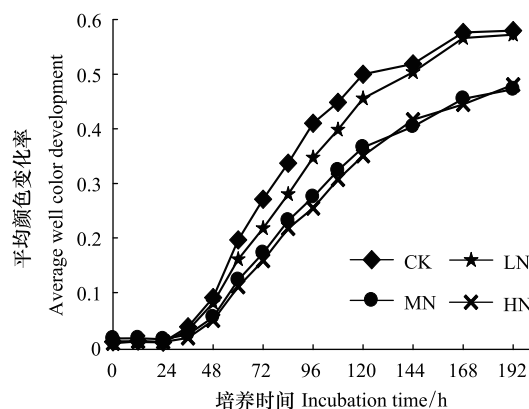


图 1 不同浓度 N 处理下土壤微生物群落 AWCD 值随培养时间的变化

Fig.1 Changes of AWCD of soil microorganism under different nitrogen additions with induction time

CK: 对照; LN: 低氮处理; MN: 中氮处理; HN: 高氮处理

生物群落对同一类型碳源的利用强度存在明显差异。具体表现在:随着 N 添加水平的提高,微生物对糖类、羧酸、氨基酸、胺类和酚酸类的利用率显著降低;尤其是 HN 处理最为明显,与 CK(对照)相比分别降低了 35.3%、48.9%、41.6%、80.2%和 32.8%。不同 N 水平处理没有影响聚合物类的利用。

为了进一步确定 N 添加对土壤微生物碳源利用率的影响,本文计算了 Shannon 多样性指数、丰富度指数和均匀度指数(表 1)。与 CK 相比,长期 MN 和 HN 处理显著降低了碳源丰富度指数以及 Shannon 多样性指数。而均匀度指数结果表明,MN 和 HN 显著高于 CK。

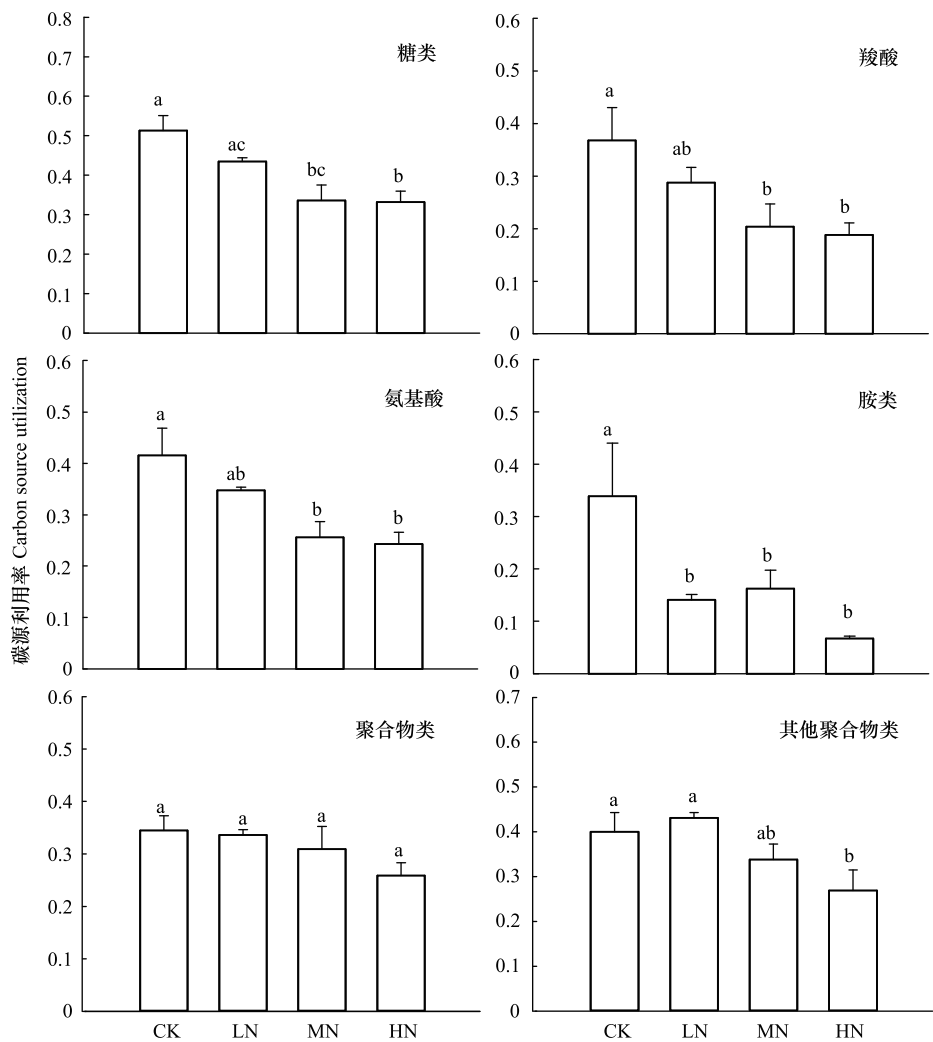


图 2 季风林中不同浓度 N 处理下土壤微生物碳源利用强度

Fig.2 Utilization intensities of carbon sources under different nitrogen additions

柱形上方不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($p < 0.05$)

表 1 不同浓度 N 处理下土壤微生物群落代谢功能多样性指数

Table 1 Metabolic functional diversity indexes of soil microbial communities under different nitrogen additions				
林型 Forest type	处理 Treatment	Shannon 多样性指数 Shannon-Wiener index	丰富度指数 Richness index	均匀度指数 Evenness
季风林 Monsoon forest	CK	3.17±0.02a	22±2.08a	1.03±0.04b
	LN	3.15±0.02a	19±0.88ac	1.06±0.01ab
	MN	3.02±0.12b	16±1.17b	1.10±0.02a
	HN	3.03±0.06b	18±2.86bc	1.09±0.02a

同列不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)

2.3 长期不同 N 量添加对土壤微生物碳源利用主成分分析

利用培养 96h 的 AWCD 数据,对 31 种碳源利用情况进行主成分分析(图 3)。主成分 1(PC1)和主成分 2(PC2)的方差贡献率分别为 63.1%和 15.1%,累计方差贡献率为 78.2%,说明 PC1 和 PC2 是微生物群落碳源利用变异的主要来源,可以解释变异的大部分信息。统计检验表明不同 N 水平添加对土壤微生物群落在碳源利用上有明显的分异(图 3,PERMANOVA 检验, $P = 0.001$)。

2.4 长期不同 N 量添加下土壤微生物碳源利用的主要环境影响因子

将不同 N 水平处理下土壤微生物碳源利用相关的 10 个环境因子归为土壤和植物两组进行 VPA 分析(图 4),其中土壤因子包括 pH、SOC、DOC、TN、TP、AP、 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N,植物因子包括植被丰富度和凋落物量。我们发现两组影响因子单独作用以及他们之间的交互作用总共解释了 90.7%的不同 N 处理下的碳源代谢多样性变异。其中土壤解释了 72.8%,植物解释了 15.4%(图 4)。

为了更好的明确影响土壤微生物碳源利用的主要显著影响环境因子,我们将与之相关的 10 个环境因子进行了典型对应分析(CCA)(图 5)。检验结果如下:引起不同 N 添加下土壤微生物碳源利用显著差异最主要的土壤因子是土壤 pH($F = 4.78, P = 0.009$)。植被因子(植被丰富度和凋落物量)与土壤微生物碳源利用差异无显著相关性。

3 讨论

本研究发现不同 N 水平添加显著影响了土壤微生物对不同碳源的利用能力以及碳源利用多样性。一般来说,土壤微生物碳源利用率和 AWCD 值之间成正比例关系,即 AWCD 可反映土壤微生物活性对碳源利用能力或利用强度^[24,38]。本研究中,季风林中土壤微生物碳源利用强度随 N 添加量的增加而显著降低,和 Compton 等^[39]在 Harvard 森林长期氮输入实验结果一致。我们还发现糖类、羧酸、氨基酸、胺类和酚酸类碳源的利用随着施 N 水平的提高显著下降(图 2)。长期高剂量 N 添加显著降低土壤微生物碳源利用率的原因可能在于:一方面,长期施用 N 肥,不仅会降低微生物生物量^[40-41],而且对土壤微生物活性产生一定的负面影响^[42],进而影响土壤微生物对底物的利用率;同时季风林样地为相对富 N 环境^[32],土壤中 N 元素基本上可能已经达到了饱和的临界值,如果继续施 N 肥,也会对微生物对碳源利用率产生一定的抑制作用^[43]。Deforest 等^[42]在北方硬叶阔叶林氮沉降样地中的试验以及刘蔚秋等^[44]在南亚热带林内生境中微生物底物利用能力影响的研究中也得出了类似的结论。但是也有研究发现施用 N 肥会提高微生物碳源利用多样性或者无影响,比如 Grayston 等^[45]在英国高山草地中发现,N 增加提高了土壤微生物的碳源利用效率。Zhou 等^[14]则在

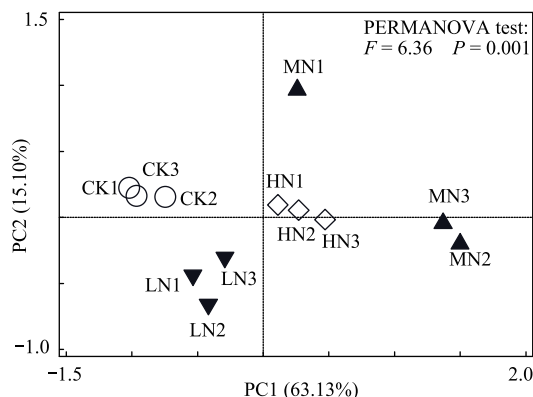


图 3 不同浓度 N 处理下土壤微生物群落对碳源利用多样性的主成分分析

Fig.3 Principal components analysis (PCA) of soil microbial carbon source utilization diversity under different nitrogen additions

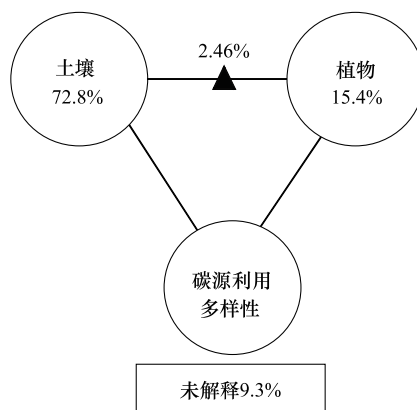


图 4 不同浓度 N 处理下土壤微生物群落碳源利用环境因子影响的分类变异分析

Fig.4 Variation partitioning analysis (VPA) of carbon source utilization diversity and environmental factors under different nitrogen additions

对位于中国西北部的古尔班通古特沙漠的研究表明,土壤微生物对底物的利用率与 N 增加并没有明显关系。这些研究的差异可能主要与研究区域、施氮时间、研究时期等有关。

多样性指数从本质上来说,一方面可以反映土壤微生物群落功能多样性,另一方面也是评价土壤微生物群落利用碳源程度的重要指标,该值和微生物群落的多样性、碳源利用效率之间有着正相关关系^[46]。不同的碳源利用多样性指数又可真实的反映土壤微生物群落功能多样性的不同侧面。本研究表明施 N 对土壤微生物的功能活性产生了显著的影响,主要体现在 Shannon 指数和丰富度指数均随着 N 浓度的增加均表现出降低的趋势(表 2)。部分研究也发现 LN 处理在不同程度上增加了均匀度和 Shannon 指数,而 HN 处理下则出现降低^[22,47]。土壤微生物对土壤生态系统环境的改变反映非常的敏感^[48]。不同浓度 N 添加处理可以通过直接或间接影响土壤理化性质、物质转换以及营养物质的有效性,使土壤微生物生存的微环境发生改变,进而导致土壤微生物结构及其功能多样性发生变化。MN 和 HN 处理下土壤微生物功能多样性显著低于对照处理可能是多种环境因子共同作用的结果,其中主要包括土壤因子和气候因子的多重作用以及两者之间的交互影响(图 4、5)。

土壤 pH($P<0.01$)对土壤微生物碳源代谢产生极其显著的影响的主要原因可能是施 N 量的增加会直接导致土壤 pH 的下降,进而对土壤中微生物群落的群落结构和活性产生显著影响。刘蔚秋等^[44]通过对南亚热带林内生境中土壤微生物对模拟大气氮沉降的响应研究,以及 Smolander 等^[49]、Aerts 等^[50]和 Wallander 等^[51]的研究表明,持续的 N 增加使土壤含 N 量处于过饱和状态,由此引起的土壤酸化、板结和毒效应可能是微生物功能改变、活性降低的重要原因。其他研究中曾发现类似的研究现象^[52-54]。植物因素对土壤微生物碳源利用效率变异的解释程度较小,这可能与该样地林龄较长而处于缓慢生长期等因素有关;或者也可能是有一些我们没有观测到的其他影响因素,还需要进一步研究。

4 结论

长期不同 N 量添加显著降低了土壤微生物碳源代谢活性,同时改变了土壤微生物对底物(不同碳源)的利用模式,进而引起微生物碳源利用多样性发生相应的改变。土壤 pH 因子是长期不同 N 水平处理下微生物碳源利用变异的主要影响因素。该研究结果可为热带森林生态系统生物多样性和生态系统功能改变对全球变化响应提供了理论依据和数据支撑;同时对于推动森林生态系统可持续发展和加强对其管理和功能调控也具有重要的科学意义。

参考文献(References):

- [1] 吕超群,田汉勤,黄耀. 陆地生态系统氮沉降增加的生态效应. 植物生态学报, 2007, 31(2): 205-218.
- [2] Galloway J N, Townsend A R, Erisman J W, Bekunda M, Cai Z C, Freney J R, Martinelli L A, Seitzinger S P, Sutton M A. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. Science, 2008, 320(5878): 889-892.
- [3] Lu C Q, Tian H Q, Liu M L, Ren W, Xu X F, Chen G S, Zhang C. Effect of nitrogen deposition on China's terrestrial carbon uptake in the context of multifactor environmental changes. Ecological Applications, 2012, 22(1): 53-75.
- [4] 张乃莉,郭继勋,王晓宇,马克平. 土壤微生物对气候变暖和大气 N 沉降的响应. 植物生态学报, 2007, 31(2): 252-261.

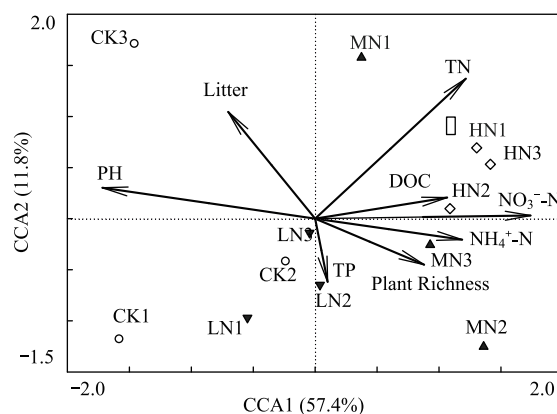


图 5 不同浓度 N 处理下土壤微生物群落碳源利用多样性与环境因子的典型对应分析

Fig. 5 Canonical correspondence analysis (CCA) of carbon source utilization and environmental factors under different nitrogen additions

- [5] 闫钟清, 齐玉春, 李素俭, 董云社, 彭琴, 贺云龙, 李兆林. 降水和氮沉降增加对草地土壤微生物与酶活性的影响研究进展. 微生物学通报, 2017, 44(6): 1481-1490.
- [6] Saiya\ Cork K R, Sinsabaugh R L, Zak D R. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(9): 1309-1315.
- [7] Kowalchuk G A, Heidelberg J F, Bailey M J. The ISME journal: multidisciplinary journal of microbial ecology. *The ISME Journal*, 2007, 1(1): 1-3.
- [8] Fierer N, Jackson R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(3): 626-631.
- [9] Mo J M, Zhang W, Zhu W X, Gundersen P, Fang Y T, Li D J, Wang H. Nitrogen addition reduces soil respiration in a mature tropical forest in southern China. *Global Change Biology*, 2008, 14(2): 403-412.
- [10] Levy\ Booth D J, Prescott C E, Grayston S J. Microbial functional genes involved in nitrogen fixation, nitrification and denitrification in forest ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 75: 11-25.
- [11] Johnson D W. Nitrogen retention in forest soils. *Journal of Environmental Quality*, 1992, 21(1): 1-12.
- [12] Frey S D, Knorr M, Parrent J L, Simpson R T. Chronic nitrogen enrichment affects the structure and function of the soil microbial community in temperate hardwood and pine forests. *Forest Ecology and Management*, 2004, 196(1): 159-171.
- [13] Wallenstein M D, McNulty S, Fernandez I J, Boggs J, Schlesinger W H. Nitrogen fertilization decreases forest soil fungal and bacterial biomass in three long\term experiments. *Forest Ecology and Management*, 2006, 222(1-3): 459-468.
- [14] Zhou X B, Zhang Y M, Downing A. Non\linear response of microbial activity across a gradient of nitrogen addition to a soil from the Gurbantunggut Desert, northwestern China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 47: 67-77.
- [15] 郑华, 欧阳志云, 王效科, 方治国, 赵同谦, 苗鸿. 不同森林恢复类型对土壤微生物群落的影响. 应用生态学报, 2004, 15(11): 2019-2024.
- [16] Johnson D, Leake J R, Lee J A, Campbell C D. Changes in soil microbial biomass and microbial activities in response to 7 years simulated pollutant nitrogen deposition on a heathland and two grasslands. *Environmental Pollution*, 1998, 103(2-3): 239-250.
- [17] 周丽霞, 丁明懋. 土壤微生物学特性对土壤健康的指示作用. 生物多样性, 2007, 15(2): 162-171.
- [18] 陈法霖, 郑华, 阳柏苏, 欧阳志云, 张凯, 肖焱, 屠乃美. 中亚热带几种针、阔叶树种凋落物混合分解对土壤微生物群落碳代谢多样性的影响. 生态学报, 2011, 31(11): 3027-3035.
- [19] 侯晓杰, 汪景宽, 李世朋. 不同施肥处理与地膜覆盖对土壤微生物群落功能多样性的影响. 生态学报, 2007, 27(2): 655-661.
- [20] Blagodatskaya E V, Anderson T H. Interactive effects of pH and substrate quality on the fungal\to\bacterial ratio and qCO₂ of microbial communities in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(10/11): 1269-1274.
- [21] Tiemann L K, Billings S A. Changes in variability of soil moisture alter microbial community C and N resource use. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(9): 1837-1847.
- [22] Yan F, McBratney A B, Copeland L. Functional substrate biodiversity of cultivated and uncultivated A horizons of vertisols in NW New South Wales. *Geoderma*, 2000, 96(4): 321-343.
- [23] 胡亚林, 汪思龙, 颜绍馥. 影响土壤微生物活性与群落结构因素研究进展. 土壤通报, 2006, 37(1): 170-176.
- [24] 袁颖红, 樊后保, 刘文飞, 黄荣珍, 沈芳芳, 胡锋, 李辉信. 模拟氮沉降对杉木人工林(*Cunninghamia lanceolata*)土壤酶活性及微生物群落功能多样性的影响. 土壤, 2013, 45(1): 120-128.
- [25] Lu X K, Mo J M, Gilliam F S, Zhou G Y, Fang Y T. Effects of experimental nitrogen additions on plant diversity in an old\growth tropical forest. *Global Change Biology*, 2010, 16(10): 2688-2700.
- [26] Zhao J, Wang F M, Li J, Zou B, Wang X L, Li Z A, Fu S L. Effects of experimental nitrogen and/or phosphorus additions on soil nematode communities in a secondary tropical forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 75: 1-10.
- [27] Cusack D F, Silver W L, Torn M S, Burton S D, Firestone M K. Changes in microbial community characteristics and soil organic matter with nitrogen additions in two tropical forests. *Ecology*, 2011, 92(3): 621-632.
- [28] Li J, Li Z A, Wang F M, Zou B, Chen Y, Zhao J, Mo Q F, Li Y W, Li X B, Xia H P. Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil microbial community in a secondary tropical forest of China. *Biology and Fertility of Soils*, 2015, 51(2): 207-215.
- [29] Mo J M, Brown S, Peng S L, Kong G H. Nitrogen availability in disturbed, rehabilitated and mature forests of tropical China. *Forest Ecology and Management*, 2003, 175(1-3): 573-583.
- [30] Fang H, Mo J M, Peng S L, Li Z A, Wang H. Cumulative effects of nitrogen additions on litter decomposition in three tropical forests in southern China. *Plant and Soil*, 2009, 297(1-2): 233-242.
- [31] Mo J M, Brown S, Xue J H, Fang Y T, Li Z A. Response of litter decomposition to simulated N deposition in disturbed, rehabilitated and mature

- forests in subtropical China. *Plant and Soil*, 2006, 282(1-2): 135-151.
- [32] Lu X K, Vitousek P M, Mao Q G, Gilliam F S, Luo Y Q, Zhou G Y, Zou X M, Bai E, Scanlon T M, Hou E Q, Mo J M. Plant acclimation to long-term high nitrogen deposition in an N-rich tropical forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(20): 5187-5192.
- [33] Jones D L, Willett V B. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(5): 991-999.
- [34] Zheng H L, Weiner L M, Bar-Am O, Epsztejn S, Cabantchik Z I, Warshawsky A, Youdim M B H, Fridkin M. Design, synthesis, and evaluation of novel bifunctional iron-chelators as potential agents for neuroprotection in Alzheimer's, Parkinson's, and other neurodegenerative diseases. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2005, 13(3): 773-783.
- [35] Jin Z, Ji F Y, Xu X, Xu X Y, Chen Q K, Li Q. Microbial and metabolic characterization of a denitrifying phosphorus uptake/side stream phosphorus removal system for treating domestic sewage. *Biodegradation*, 2014, 25(6): 777-786.
- [36] Garland J L. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(2): 213-221.
- [37] Garcia-Pichel F, Loza V, Marusenko Y, Mateo P, Potrafk R M. Temperature drives the continental-scale distribution of key microbes in topsoil communities. *Science*, 2013, 340(6140): 1574-1577.
- [38] Zabinski C A, Gannon J E. Effects of recreational impacts on soil microbial communities. *Environmental Management*, 1997, 21(2): 233-238.
- [39] Compton J E, Watrud L S, Porteous L A, Degroot S. Response of soil microbial biomass and community composition to chronic nitrogen additions at Harvard forest. *Forest Ecology and Management*, 2004, 196(1): 143-158.
- [40] Janssens I A, Dieleman W, Luyssaert S, Subke J A, Reichstein M, Ceulemans R, Ciais P, Dolman A J, Grace J, Matteucci G, Papale D, Piao S L, Schulze E D, Tang J, Law B E. Reduction of forest soil respiration in response to nitrogen deposition. *Nature Geoscience*, 2010, 3(5): 315-322.
- [41] 王光华, 刘俊杰, 齐晓宁, 金剑, 王洋, 刘晓冰. Biolog 和 PCR-DGGE 技术解析施肥对德惠黑土细菌群落结构和功能的影响. *生态学报*, 2008, 28(1): 220-226.
- [42] DeForest J L, Zak D R, Pregitzer K S, Burton A J. Atmospheric nitrate deposition and the microbial degradation of cellobiose and vanillin in a northern hardwood forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(6): 965-971.
- [43] 鲁显楷, 莫江明, 董少峰. 氮沉降对森林生物多样性的影响. *生态学报*, 2008, 28(11): 5532-5548.
- [44] 刘蔚秋, 刘滨扬, 王江, 雷纯义. 不同环境条件下土壤微生物对模拟大气氮沉降的响应. *生态学报*, 2010, 30(7): 1691-1698.
- [45] Grayston S J, Wang S, Campbell C D, Edwards A C. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(3): 369-378.
- [46] 翟辉, 张海, 张超, 周旭. 黄土塬状丘陵区不同类型林分土壤微生物功能多样性. *林业科学*, 2016, 52(12): 84-91.
- [47] 隋心, 张荣涛, 刘赢男, 许楠, 倪红伟. 模拟氮沉降对三江平原小叶章湿地土壤微生物功能多样性的影响. *草地学报*, 2016, 24(6): 1226-1233.
- [48] Lerch T Z, Dignac M F, Nunan N, Bardoux G, Barriuso E, Mariotti A. Dynamics of soil microbial populations involved in 2,4-D biodegradation revealed by FAME-based Stable Isotope Probing. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(1): 77-85.
- [49] Chung H, Zak D R, Reich P B, Ellsworth D S. Plant species richness, elevated CO₂, and atmospheric nitrogen deposition alter soil microbial community composition and function. *Global Change Biology*, 2010, 13(5): 980-989.
- [50] Aerts R, de Caluwe H. Nitrogen deposition effects on carbon dioxide and methane emissions from temperate peatland soils. *Oikos*, 1999, 84(1): 44-54.
- [51] Wallander H. A new hypothesis to explain allocation of dry matter between mycorrhizal fungi and pine seedlings in relation to nutrient supply. *Plant and Soil*, 1995, 168-169(1): 243-248.
- [52] Feng Y Z, Grogan P, Caporaso J G, Zhang H Y, Lin X G, Knight R, Chu H Y. pH is a good predictor of the distribution of anoxygenic purple phototrophic bacteria in Arctic soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 74: 193-200.
- [53] Liu J J, Sui Y Y, Yu Z H, Shi Y, Chu H Y, Jin J, Liu X B, Wang G H. High throughput sequencing analysis of biogeographical distribution of bacterial communities in the black soils of northeast China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70: 113-122.
- [54] Wei C Z, Yu Q, Bai E, Lü X T, Li Q, Xia J Y, Kardol P, Liang W J, Wang Z W, Han X G. Nitrogen deposition weakens plant-microbe interactions in grassland ecosystems. *Global Change Biology*, 2013, 19(12): 3688-3697.