

DOI: 10.5846/stxb201805311209

于伟伟, 陈媛媛, 汪旭明, 王效科. 硬化地表对不同树种下土壤微生物群落结构和功能的影响. 生态学报, 2019, 39(10): - .

Yu W W, Chen Y Y, Wang M, Wang X K. Effects of land pavement on the structure and function of soil microbial community under different tree species. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(10): - .

硬化地表对不同树种下土壤微生物群落结构和功能的影响

于伟伟^{1,2}, 陈媛媛¹, 汪旭明^{1,2}, 王效科^{1,2,3,*}

1 中国科学院生态环境研究中心, 城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085

2 中国科学院大学, 北京 100049

3 北京城市生态系统研究站, 北京 100085

摘要: 城市硬化地表可减少土壤有机物输入, 并改变土壤理化性质, 由此可能影响土壤微生物群落结构和功能, 但目前国内外相关研究较少。为研究不同树种下土壤微生物群落对硬化地表的响应, 设置透水硬化地表 (Pervious pavement, P)、不透水硬化地表 (Impervious pavement, IP) 和自然地表 (Control, C) 3 个处理水平的地表类型, 并栽种北方常见的常绿针叶树油松 (pine, *Pinus tabulaeformis*) 和落叶阔叶树白蜡 (ash, *Fraxinus chinensis*)。采用氯仿熏蒸浸提法、磷脂脂肪酸法 (PLFA) 及 BIOLOG 培养法分别测定了土壤微生物量、群落结构和功能多样性。结果表明: (1) 与自然地表 (C) 相比, 硬化地表下土壤微生物生物量碳、氮含量显著降低 ($P < 0.05$), 土壤微生物群落组成和群落功能多样性发生了改变。透水和不透水硬化地表下土壤微生物细菌、真菌数量降低, 真菌/细菌 (fungi / bacteria, F/B)、cy/pre (环丙基脂肪酸/前体结构 cyclopropyl fatty acid / monoenoic precursors) 和 sat/mono (一般饱和脂肪酸/单不饱和脂肪酸 normal saturated fatty acid / monounsaturated fatty acid) 等环境压力指标均显著升高 ($P < 0.05$), 且土壤微生物 cy/pre 值在不透水硬化地表下显著高于透水硬化地表下, 表明不透水硬化地表下土壤环境压力更大; 不透水硬化地表下土壤微生物对糖类、氨基酸类、羧酸类、胺类和聚合物的利用显著降低 ($P < 0.05$), 微生物群落功能丰富度及多样性指数显著降低 ($P < 0.05$)。 (2) 土壤微生物群落结构和功能多样性在不同树种间存在一定差异。油松树下土壤微生物真菌、丛枝菌根真菌 (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) 和 F/B 值在透水和不透水硬化地表下均显著降低 ($P < 0.05$), 而白蜡树下只在透水硬化地表下显著降低 ($P < 0.05$); 硬化地表使土壤微生物对糖类、氨基酸类和聚合物的利用强度在油松和白蜡树下表现出显著差异。硬化地表对土壤微生物的影响将进一步影响城市绿地的养分循环、树木生境和生态系统服务功能。

关键词: 硬化地表; 土壤微生物群落; 油松; 白蜡

Effects of land pavement on the structure and function of soil microbial community under different tree species

YU Weiwei^{1,2}, CHEN Yuanyuan¹, WANG Xuming^{1,2}, WANG Xiaoke^{1,2,3,*}

1 State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3 Beijing Urban Ecosystem Research Station, Beijing 100085, China

Abstract: Land pavement is popular during urbanization. It provides convenience to the daily life of citizens and urban development. However, it can inhibit urban plant growth by altering soil nutrients and microbial communities. Plants can purify the air as pollutants movers and alleviate the heat island effect by offering shade. Thus, it is vital to provide favorable

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41571035, 71533005) 和国家重点研发计划 (2016YFC0503004)

收稿日期: 2018-05-31; **网络出版日期:** 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wangxk@rcees.ac.cn

growth conditions for plants. Consequently, it is very important to determine how land pavement affects soil microbial community structure and function as related to plant growth. In the current study, pervious (P) and impervious (IP) pavement were studied in reference to the natural surface (control, C) to determine the response of soil microorganisms under different types of pavement with pine (*Pinus tabulaeformis*) and ash (*Fraxinus chinensis*). Topsoil (0—20 cm depth) was analyzed by the well-developed methods of Biolog Ecoplate (BIOLOG) and phospholipid fatty acid (PLFA) profiles for microbial functional and structural diversity. Microbial biomass carbon (C_{mic}) and nitrogen (N_{mic}) were also examined. The results showed the following. (1) Compared to C, P and IP treatments decreased soil C_{mic} and N_{mic} and significantly changed soil microbial carbon source utilization patterns and soil microbial community structure by increasing F/B (fungi/bacteria), cy/pre (cyclopropyl fatty acid /monoenoic precursors), and sat/mono(normal saturated fatty acid/monounsaturated fatty acid). It is interesting that unlike fungi/bacteria and sat/mono, cy/pre under the IP treatment was significantly higher than that from the P treatment, with more stress in the former than the later. Moreover, IP treatment reduced soil microbial utilization of carbohydrates, amino acids, carboxylic acids, amines, and polymers. IP treatment also significantly decreased microbial community richness and diversity index by 27% and 10% for pine, and 70% and 37% for ash, respectively. (2) The effects of land pavement on soil microbial community structure and functional diversity differed with tree species. For pine, soil microbial fungi, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and F/B were significantly reduced under P (40%) and IP (39%), whereas for ash they were significantly decreased by 38% only under P. Additionally, there were differences in the effects of land pavement on carbohydrates, amino acids, and polymers of soil microorganisms between pine and ash species. Pavement effects on soil microorganisms adversely affect nutrient cycling, tree habitat, and ecosystem service of urban green space at a large scale, and the present study provides some advice to the decision-makers during urban greening and development.

Key Words: pavement; soil microbial community; *Pinus tabulaeformis*; *Fraxinus chinensis*

随着城市化的快速发展,城市人口迅速增加,城市用地迅速扩张^[1]。硬化地表是城市化的重要标志^[2]。中国是世界上硬化地表面积最大的国家,硬化地表几乎覆盖了城市的 63%^[3]。城市硬化地表主要分为透水硬化(如透水路面等)和不透水硬化(如混凝土建筑、柏油路面等)两种形式^[4]。硬化地表为城市提供干净整洁的环境和便利高效的生活生产设施,同时也产生了一系列负面影响,如减少雨水下渗形成地表径流^[5],增加地表温度^[6],改变土壤和植物的蒸发^[7],阻止土气交换^[8]等。为了缓解硬化地表给城市带来的不利影响和城市绿地面积不足,城市绿化树木已经栽种到硬化地表上^[9],然而硬化地表会抑制树木的生长^[7,10],降低植物根茎生物量^[11]。不同类型硬化地表对树木生长的影响存在差异,Morgenroth 认为透水硬化地表上植物生长优于不透水硬化地表^[12-13],Volder 等^[14]的研究结果表明两种类型硬化地表对树种生长影响无显著差异。Montague 和 Kjelgren 通过研究 4 个树种在 6 种不同程度硬化地表的生长状况得出结论,认为不同树种对硬化地表的响应因树种和硬化类型而异^[15]。

土壤微生物是生物地球化学循环的驱动者,是生态系统功能和服务的重要支撑者。硬化地表从多方面影响土壤性质和功能,如硬化地表增加土壤的紧实度^[16]、改变土壤理化特性^[17-18]、提高土壤温度、降低土壤含水量^[19]、引起土壤碳流失^[20]、阻碍凋落物进入土壤、造成土壤有机碳及微生物量碳、氮含量降低,并导致土壤微生物活性及功能下降^[17,21-22]。与不透水硬化地表相比,透水硬化地表能在一定程度上缓解硬化地表对土壤微生物的消极影响^[22]。Francini 等^[23]发现不同地表植被及树种对土壤微生物的影响不同。不同树种的凋落物和根系分泌物存在差异,这将会导致硬化地表下不同树木的土壤微生物的种类及数量存在差异。已有研究多集中在对硬化地表下树木生长和土壤微生物量及酶活性的影响上,与土壤生态学过程尤其相关的微生物群落的响应及其反馈研究较少,不同树种下土壤微生物对硬化地表的响应并不清楚,致使硬化地表植树对城市生态系统的功能和服务的影响认识不足。磷脂脂肪酸(PLFA)是所有活细胞的基本组分,具有广泛的结构多样

性,常被用作微生物群落的分子标记^[24-25],被广泛应用于土壤微生物群落结构和功能的研究中。BIOLOG 微孔板是一种以碳源利用为基础的定量分析方法,广泛应用于评价土壤微生物群落的功能多样性^[26]。PLFA 和 BIOLOG 分析方法结合可以很大程度地提高结果的可靠性。

本研究原位模拟透水和不透水两种类型硬化地表,并设置自然地表为对照,选取 5 年树龄的常绿针叶树油松(*Pinus tabulaeformis*)和落叶阔叶树白蜡(*Fraxinus chinensis*)中 0—20 cm 的表层土,采用氯仿熏蒸浸提法、磷脂脂肪酸法(PLFA)及 BIOLOG 培养法,分析评价土壤微生物量、群落结构和功能,探讨不同类型硬化地表对土壤微生物群落的影响及不同树种下土壤微生物的响应,为科学全面评价城市绿地生态系统功能和服务提供数据支撑,为硬化地表树木选育和管理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地设在北京市昌平区马池口镇丈头村种子管理站(40°12'N, 116°08'E),属暖温带大陆性季风气候,四季分明,年平均降水量 550.3 mm,集中于夏季的 6—8 月份,年均气温 12.1℃。土壤类型为潮土,质地为砂壤。试验硬化处理土壤理化性状见表 1(方法参见土壤农化分析^[27])。

表 1 不同硬化处理下土壤理化性状

Table 1 Physical and chemical characterization of soils in different pavements

树种 Tree species	处理 Treatments	pH	全碳/(g/kg) Total carbon	全氮/(g/kg) Total nitrogen	有机碳/(g/kg) Organic carbon	C/N
油松 <i>Pinus tabulaeformis</i>	自然地表	7.91±0.02a	15.99±0.92a	0.90±0.09ab	8.41±0.40a	17.86±0.79a
	透水	7.74±0.05b	14.06±0.37b	0.76±0.04b	7.45±0.57a	18.53±0.51a
	不透水	7.74±0.02b	16.53±0.44a	0.96±0.04a	7.85±0.29a	17.21±0.34a
白蜡 <i>Fraxinus chinensis</i>	自然地表	7.74±0.01a	15.80±0.30a	0.94±0.03a	8.51±1.21a	16.81±0.33a
	透水	7.83±0.03a	15.05±0.03a	0.86±0.01a	8.22±0.11a	17.52±0.21a
	不透水	7.76±0.05a	15.99±0.91a	0.92±0.11a	8.11±0.77a	17.60±1.29a

同列不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

1.2 试验设计

试验地于 2012 年 4 月 12 日铺设,设置透水地表、不透水地表和自然地表三个硬化处理,以自然地表作为对照,渗透率超过 0.4 mm/s 的透水砖铺设地面作为透水地表,渗透率几乎为 0 的不透水砖铺设地面作为不透水地表。每个硬化处理 3 个重复,分别种植白蜡和油松,每个重复小区种植树木 23 棵,分 5 行,行距和株距均为 1 m。硬化地表上树根周围留有 20 cm×20 cm 的方形树坑。试验所用砖的大小为 20 cm×10 cm×6 cm(长×宽×高)。供试油松和白蜡选用 1 年生幼苗,于 2012 年 4 月 16 日移栽。

1.3 土壤样品的采集

于 2015 年 9 月 9 日用直径 2.5 cm 的土钻采集 0—20 cm 土层的土壤样品。每个小区按“Z”形随机采用 5 点混样的方法取距离树干 0.5 m 左右的土样,硬化地表撬开砖,取完土后将砖复原,不透水硬化处理用水泥密封砖缝。样品带回实验室过 2 mm 筛后分 3 份,一份放在-80℃冰箱用于 PLFA 测定,一份放在 4℃冰箱用于微生物碳氮和 BIOLOG 测定,剩余土样风干用于理化性状的测定。

1.4 分析方法

微生物量碳、氮的测定采用氯仿熏蒸—浸提—非色散红外吸收法:称取两份鲜土(25g),一份用氯仿熏蒸 24 h,另一份未熏蒸;用 100 mL 0.5 mol/L 的 K_2SO_4 溶液萃取,在摇床上震荡 30 min,用 Whatman 滤纸过滤;滤液用总有机碳(氮)分析仪(Elementar, Liqui TOC II, Germany)测定^[28]。

土壤微生物量碳(C_{mic})和氮(N_{mic})计算:

$$C_{mic} = C_F - C_{UF}/K \quad (1)$$

$$N_{mic} = N_F - N_{UF} / K \quad (2)$$

式中, C_F 和 N_F 分别为熏蒸土壤浸提液的总碳和氮含量, C_{UF} 和 N_{UF} 分别为未熏蒸土壤浸提液中的总碳和氮含量, K 为熏蒸提取法的转换系数, 取值 0.45。

BIOLOG 测定采用 BIOLOG® -ECO 培养板培养: 称取 10 g 鲜土, 加入 90 mL 无菌 NaCl 溶液 (0.85%) 在摇床上震荡 30 min, 在超净工作台中用无菌 NaCl 溶液 (0.85%) 稀释到 10^{-3} , 用 8 通道 100 μ L 加样器将稀释液接种到 BIOLOG 微孔板上。将接种好的培养板放在 25℃ 恒温培养箱培养 7 d, 每 24 h 在 590 nm 波长下读取培养板的吸光值。试验采用 72 h 的数据对微生物碳源利用进行分析^[26]。

每孔颜色平均变化率 (AWCD) 计算公式为:

$$AWCD = \sum (C - R) / n \quad (3)$$

式中, C 为每个有培养基孔的光密度值, R 为对照孔的光密度值, n 为培养基孔数, ECO 板 n 值为 31。

培养基的丰富度 (richness) 指数指被利用的碳源总数目, 多样性 (diversity) 指数采用 Shannon-Weinner 指数 (H'):

$$H' = \sum (P_i \times \log P_i) \quad (4)$$

$$P_i = (C - R) / \sum (C - R) \quad (5)$$

PLFA 的测定: 取 4 g 冷冻干燥的土样, 用氯仿、甲醇和磷酸缓冲液 (1:2:0.8, V/V/V) 振荡提取, 取氯仿相, N_2 吹干, 氯仿溶解过硅胶柱 (100—200 目), 以甲醇洗涤, N_2 吹干洗涤液, 用甲醇甲苯溶液 (1:1, V/V) 溶解后甲酯化^[29], 加 1 mL 含内标 19:0 的正己烷溶液, 上 GC—MS (Agilent 6850 GC—MS) 测定。使用细菌脂肪酸标准和 MIDI 峰鉴别软件 (MIDI, Inc., Newark, DE) 确定峰, 根据内标浓度确定不同结构峰面积浓度^[30]。PLFA 含量用 nmol/g 表示。其中, i14:0、14:0、15:0、16:0、17:0、18:0、14:1w5c、a15:0、i15:0、i15:1w6c、a16:0、i16:0、16:1w7c、16:1w9c、16:3w6c、a17:0、17:0cy、i17:0、a17:1w9c、i17:1w9c、10Me 17:1、10Me 18:1、17:1w8c、i18:0、18:1w5c、19:0cy 表示细菌^[30-33]; 16:1w5c、18:1w7c、18:1w9c、18:2w6c、18:3w6c 表示真菌, 16:1w5c 表示丛枝菌根真菌 (AMF), 10Me 16:0、10Me 17:0、10Me 18:0、10Me 19:0、10Me 20:0 表示放线菌^[31, 33-34]; 真菌/细菌 (F/B), 环丙基脂肪酸/前体结构 [(cy/pre), (cy17:0+cy19:0)/(16:1w7+18:1w7)], 饱和脂肪酸/单不饱和脂肪酸 [(sat/mono), (14:0+15:0+16:0+17:0+18:0+20:0)/(16:1w9c+16:1w7c+16:1w5c+17:1w8c+18:1w9c+18:1w7c+18:1w5c+19:1w11c+20:1w9c)] 表示环境压力^[35-36]。计算细菌、真菌、AMF 和放线菌含量以及 F/B、cy/pre、sat/mono 的值。

1.5 数据处理

运用 SPSS 22.0 对数据进行统计分析。不同硬化处理间土壤微生物量碳与氮、多样性指数、丰富度指数及对六类碳源利用的差异采用 One—Way ANOVA 进行显著性分析。BIOLOG 实验采用 72 h 土壤微生物的吸光值用 PCA (主成分分析) 进行碳源利用类型差异的分析。对 PLFA 单体的含量进行 PCA 分析, 分析不同类型硬化地表下土壤微生物群落结构的差异。用 Origin Pro 2016 制图。

2 结果与分析

2.1 土壤微生物量碳氮

硬化地表显著降低土壤微生物碳氮含量 (图 1)。与自然地表 (Control, C) 相比, 透水硬化地表 (Pervious pavement, P) 和不透水硬化地表 (Impervious pavement, IP) 使油松土壤微生物碳的含量分别显著降低 74% 和 83% ($P < 0.05$), P 和 IP 使白蜡土壤微生物碳的含量分别显著降低 72% 和 69% ($P < 0.05$); 油松土壤微生物量氮在 P 和 IP 下分别显著降低 67% 和 80% ($P < 0.05$), 白蜡土壤微生物量氮在 P 和 IP 下均显著降低 64% ($P < 0.05$)。土壤微生物量碳氮在不同树种间也存在差异, 但是树种和硬化处理间没有交互作用。

2.2 土壤微生物群落结构

硬化地表对土壤微生物群落结构的影响显著 (图 2)。白蜡树下土壤细菌, 在透水硬化地表 (P) 和不透水

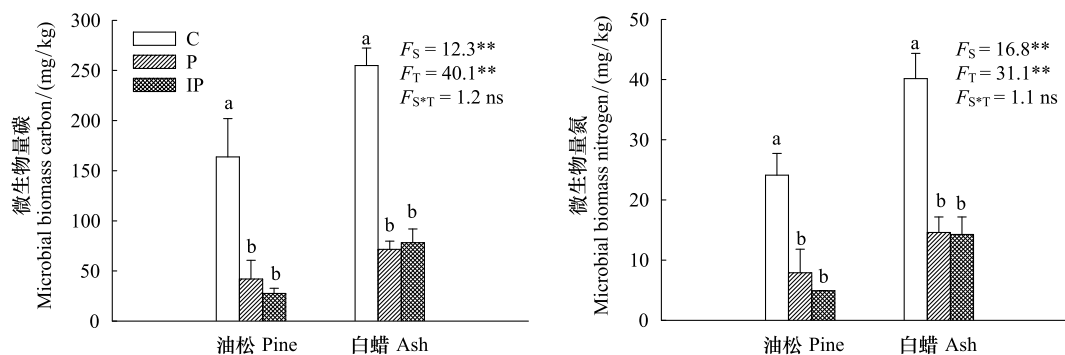


图1 土壤微生物量碳氮的变化

Fig.1 Changes of soil microbial carbon and nitrogen

P;透水硬化地表 Pervious pavement;IP;不透水硬化地表 Impervious pavement;C;自然地表 Control;F:F值 F-Value;S:树种 Tree species;T:处理 Treatments; *: $* < 0.05$, **: $* < 0.01$;ns:不显著 no significant difference

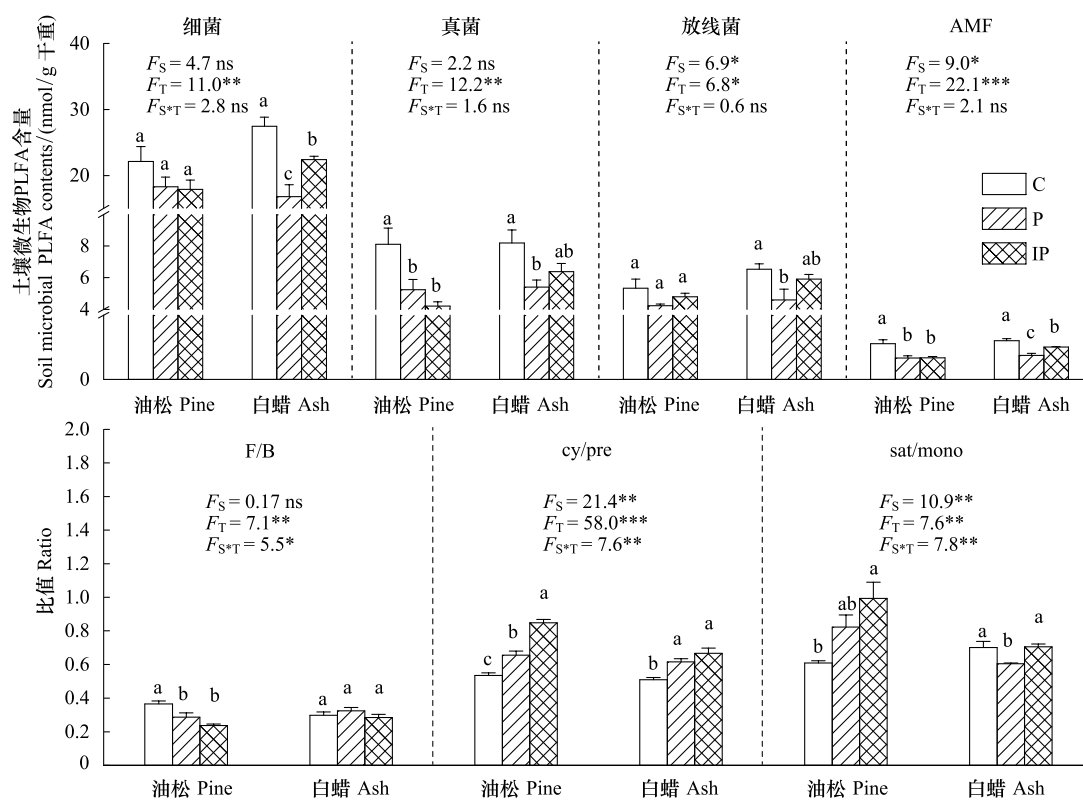


图2 土壤微生物 PLFA 各组分和比值

Fig.2 Soil microbial group PLFAs contents and ratios

AMF:丛枝菌根真菌 arbuscular mycorrhizal fungi;F/B:真菌/细菌 fungi / bacteria;cy/pre:环丙基脂肪酸/前体结构 cyclopropyl fatty acid / monoenoic precursors;sat/mono:一般饱和脂肪酸/单不饱和脂肪酸 normal saturated fatty acid/monounsaturated fatty acid

硬化地表(IP)下,比自然地表(C)分别显著降低 39%和 18% ($P < 0.05$),在 P 下比在 IP 下显著降低 25% ($P < 0.05$)。油松树下土壤真菌,在 P 和 IP 下比 C 分别显著降低 35%和 48% ($P < 0.05$),白蜡树下土壤真菌在 P 下比 C 显著降低 34% ($P < 0.05$)。白蜡树下土壤放线菌在 P 下比 C 显著降低 30% ($P < 0.05$)。油松与白蜡树下土壤 AMF 在 P 和 IP 下比 C 分别显著降低 40%和 39% ($P < 0.05$)与 38%和 16% ($P < 0.05$),白蜡树下土壤 AMF 在 P 下比 IP 显著降低 26% ($P < 0.05$)。油松树下土壤 F/B 在 P 和 IP 下比 C 分别显著降低 22%和 35% ($P < 0.05$)。

0.05),油松与白蜡树下土壤微生物 cy/pre 在 P 和 IP 下比 C 显著升高 23%和 59% ($P<0.05$) 与 21%和 31% ($P<0.05$)。油松树下土壤微生物 cy/pre 在 IP 下比在 P 下显著升高 19% ($P<0.05$)。与 C 相比,IP 使油松土壤 sat/mono 显著升高 63% ($P<0.05$),P 使白蜡土壤 sat/mono 显著降低 14% ($P<0.05$)。树种的差异仅对土壤放线菌、丛枝菌根真菌 (AMF) 及环境压力指标 F/B、cy/pre 和 sat/mono 有显著影响。树种和硬化程度的交互作用对土壤微生物 F/B、cy/pre 和 sat/mono 有显著影响。

主成分分析结果表明不同硬化地表类型下,土壤微生物群落结构具有显著性差异 (图 3)。油松土壤微生物群落结构两个主成分解释了总变量的 66.7% ($PC1=47.3\%$, $PC2=19.4\%$),白蜡土壤微生物群落结构两个主成分解释了总变量的 82.8% ($PC1=72.8\%$, $PC2=10.0\%$)。油松土壤微生物群落结构 $PC1$ ($F=6, P<0.05$) 能将 3 个硬化处理显著区分开,与油松土壤微生物群落中与主成分 $PC1$ 显著相关的主要为真菌特征脂肪酸 16:1 w5c、18:1 w7c、18:1 w9c、18:2 w6c、18:3 w6c 和放线菌特征脂肪酸 10Me 16:0、10Me 17:0、10Me 18:0 (表 2),白蜡土壤微生物群落结构 $PC2$ ($F=10, P<0.05$) 能将 3 个硬化处理显著区分开,白蜡土壤微生物群落中与 $PC2$ 显著相关的均为细菌特征脂肪酸 (表 2)。

表 2 土壤微生物中与主成分显著相关的 PLFA 单体

Table 2 LFA with high correlation coefficients for PC1 and PC2 in PCA of soil microbial structure

油松 <i>Pinus tabulaeformis</i>				白蜡 <i>Fraxinus chinensis</i>			
PC1	<i>r</i>	PC2	<i>r</i>	PC1	<i>r</i>	PC2	<i>r</i>
17:0	0.1860 **	a13:0	0.1964 **	14:0 iso	0.1744 *	18:0	0.1882 **
a15:0	0.1878 **	14:1w5c	0.1964 **	14:0	0.1909 **	16:1 w7c	0.1675 *
15:0 DMA	0.1839 **	15:1 w7c	0.1964 **	15:0	0.1742 *	16:3 w6c	0.1683 *
i15:0	0.1890 **	a16:0	0.1964 **	16:0	0.1795 *	17:1 w8c	0.1848 **
i15:1 w6c	0.1881 **	a17:0	0.1745 *	a15:0	0.1911 **	18:1 w7c	0.1849 **
10Me 16:0	0.1874 **	18:0 DMA	0.1763 *	15:0 DMA	0.1847 **	10Me 18:1w7c	0.1870 **
i16:0	0.1852 **			i15:0	0.1950 **	18:1 w9c	0.1710 *
16:1 w5c	0.1962 **			10Me 16:0	0.1973 **	20:4 w6c	0.1877 **
16:1 w7c	0.1933 **			i16:0	0.1944 **		
16:1 w9c	0.1765 *			16:1 w5c	0.1822 **		
10Me17:0	0.1715 *			16:1 w7c	0.1722 *		
cy17:0 w7c	0.1909 **			16:1 w9c	0.1777 *		
i17:0	0.1729 *			10Me17:0	0.1943 **		
17:1 w8c	0.1694 *			a17:0	0.1855 **		
10Me 18:0	0.1739 *			cy17:0 w7c	0.1801 **		
18:1 w7c	0.1905 **			i17:0	0.1931 **		
10Me 18:1w7c	0.1881 **			i17:1 w9c	0.1780 *		
18:1 w9c	0.1964 **			10Me 17:1 w7c	0.1918 **		
18:2 w6c	0.1701 *			10Me 18:0	0.1798 **		
18:3 w6c	0.1881 **			18:1 w5c	0.1774 *		
cy19:0 w7c	0.1861 **			cy19:0 w7c	0.1821 **		
20:4 w6c	0.1785 *			21:1 w3c	0.1924 **		
21:1 w3c	0.1870 **						

** $P<0.01$, * $P<0.05$

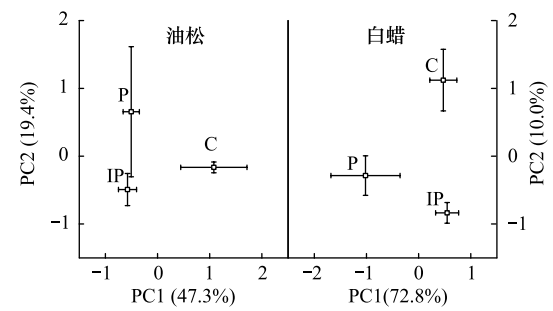


图 3 微生物群落结构主成分分析

Fig.3 Principal component analysis of PLFA data distinguished under pine and ash with different pavements

2.3 土壤微生物群落功能

硬化地表限制土壤微生物群落功能 (图 4)。油松和白蜡土壤微生物平均每孔变色率在不透水硬化地表下分别显著降低 32%和 68% ($P<0.05$),两种树种间存在显著差异,树种和硬化处理间存在交互作用。油松和

白蜡在 P 和 IP 下土壤微生物群落对糖类、氨基酸类、羧酸类三类主要碳源的利用超过 70%。油松和白蜡土壤微生物在 IP 下对这三类主要碳源的利用率发生变化,IP 使油松土壤微生物对糖类的利用率降低,对羧酸类的利用率升高;IP 使白蜡土壤微生物对糖类的利用率升高,对羧酸类的利用率降低。

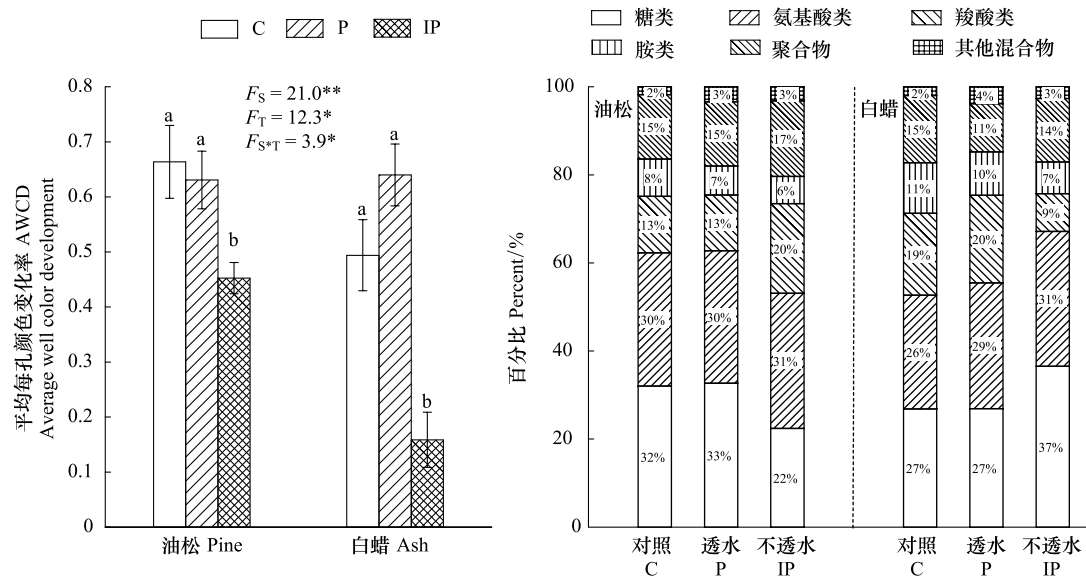


图 4 BIOLOG 培养 72 h 平均每孔颜色变化率和土壤微生物对不同碳源利用百分比

Fig.4 Average well color development (AWCD) at 72h during experiment and the effect of pavements on utilization of main carbon sources

硬化地表对土壤微生物群落功能的影响表现在对碳源的利用上(表 3)。IP 显著降低油松土壤微生物对糖类、氨基酸类、胺类、聚合物的利用,降幅分别为 52%、31%、50%和 20%($P<0.05$),IP 使白蜡土壤微生物对糖类、氨基酸类、羧酸类、胺类和聚合物的利用分别显著降低 56%、62%、85%、80%和 70%($P<0.05$),P 使白蜡土壤微生物对氨基酸类的利用显著升高 43%($P<0.05$)。两个树种土壤微生物群落功能存在差异,油松土壤微生物对糖类、氨基酸、聚合物的利用显著高于白蜡(表 3)。树种和硬化处理的交互作用显著影响土壤微生物对羧酸类、胺类及聚合物的利用(表 3)。

表 3 BIOLOG 培养 72 h 土壤微生物对六类碳源的利用

Table 3 The effect of pavements on utilization of main carbon sources of soil microbial under pine and ash

树种 Tree species	处理 Treatments	糖类 Carbohydrates	氨基酸类 Amino acids	羧酸类 Carboxylic acid	胺类 Amines	聚合物 Polymers	其他混合物 Other mixture
油松 <i>Pinus tabulaeformis</i>	自然地表 C	6.6±1.2a	6.2±0.3a	2.6±0.5a	1.7±0.2a	3±0.3a	0.4±0.1a
	透水 P	6.4±1.3a	5.9±0.3a	2.5±0.3a	1.3±0.1ab	2.8±0.1ab	0.7±0.1a
	不透水 IP	3.1±0.1b	4.3±0.5b	2.9±0.5a	0.9±0.1b	2.4±0.1b	0.4±0.1a
白蜡 <i>Fraxinus chinensis</i>	自然地表 C	4.1±0.6a	4±0.7b	2.8±0.7a	1.8±0.4a	2.3±0.2a	0.3±0.1ab
	透水 P	5.3±0.8a	5.7±0.5a	3.9±0.7a	2.0±0.2a	2.2±0.3a	0.8±0.3a
	不透水 IP	1.8±0.7b	1.5±0.4c	0.4±0.2b	0.4±0.2b	0.7±0.3b	0.1±0.1b
树种 Tree species	*	***	ns	ns	***	ns	
处理 Treatments	**	***	*	***	***	*	
树种×处理 Tree species×treatments	ns	*	**	ns	*	ns	

同列不同字母代表在 5%水平上 LSD 多重比较差异显著; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

主成分分析表明硬化地表改变了不同树种下土壤微生物群落对单一碳源的利用(图 5)。油松土壤微生物

物碳源利用的两个主成分解释了总变量的 40.6% ($PC1 = 28.8\%$, $PC2 = 11.8\%$), 白蜡土壤微生物碳源利用的两个主成分解释了总变量的 50.6% ($PC1 = 31.8\%$, $PC2 = 18.8\%$)。白蜡土壤微生物碳源利用的 $PC2$ ($F = 18$, $P < 0.001$) 能将 3 个硬化处理显著区分开, 表明硬化地表改变了白蜡土壤微生物单一碳源利用。

不透水硬化地表降低土壤微生物群落功能丰富度和多样性指数(图 6)。不透水硬化地表使油松和白蜡土壤微生物丰富度分别显著降低 27% 和 70% ($P < 0.05$), 不透水硬化显著降低油松和白蜡土壤微生物多样性指数, 降幅达 10% 和 37% ($P < 0.05$)。硬化处理和树种对土壤微生物丰富度和多样性的影响存在交互作用。

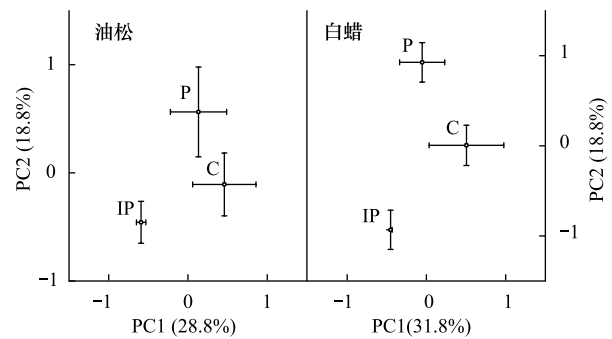


图 5 土壤微生物碳源利用主成分分析

Fig.5 Principal component analysis of carbon source utilization pattern distinguished under pine and ash with different pavements

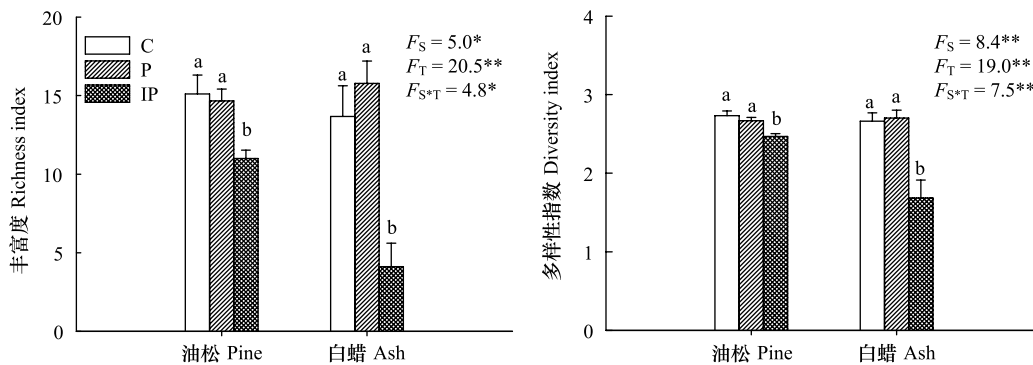


图 6 土壤微生物群落丰富度和多样性指数

Fig.6 Richness and diversity of soil for different pavements

3 讨论

本研究发现硬化地表显著影响土壤微生物群落结构和功能: (1) 硬化地表下土壤微生物碳、氮的含量均显著降低 ($P < 0.05$), 这与 Wei 等^[21]的研究结果一致, Piotrowska 和 Charzyński 通过现场观测的方法也发现硬化地表降低土壤微生物量碳、氮^[22]。可能由于硬化地表将土壤“保护”起来^[4], 阻碍凋落物进入土壤引起土壤中碳及氮素含量降低, 从而造成土壤微生物量碳氮的降低。(2) 硬化地表下土壤微生物细菌、真菌、AMF 数量均显著降低, 这可能由于硬化地表增加了土壤紧实度和土壤温度, 降低了土壤含水量^[16, 19], 改变了土壤理化特性^[17-18], 从而影响土壤微生物的生长。细菌、真菌数量的减少, 主要与硬化地表减少了进入土壤的有机物数量有关。土壤真菌数量降低会造成细菌数量的减少, 因为很多细菌依赖真菌分解物生存, 同时, 真菌数量的降低也会增加 N 流失^[37]。(3) 硬化地表下土壤微生物 cy/pre 的比值显著升高。可能是由于硬化地表降低土壤水分^[5]、增加地表温度^[6]、阻碍土气交换^[8]等, 从而导致硬化地表下土壤微生物环境压力增大。城市硬化地表阻碍土壤与环境之间的物质能量交换, 降低土壤总氮、微生物量碳、氮和微生物活性及微生物群落功能多样性^[17, 20-21]。

本研究发现不同类型硬化地表对土壤微生物群落结构和功能的影响不同。表现在: (1) 与自然地表(C)相比, 不透水硬化地表(IP)下土壤微生物平均每孔变色率显著降低(图 4), 土壤微生物对糖类、氨基酸类、羧酸类、胺类、聚合物的利用显著降低(表 2), 土壤微生物功能多样性和丰富度指数显著降低(图 6), 而透水硬化地表(P)下这些指标未发生显著改变。可能由于透水硬化地表有利于雨水下渗, 增加地表通透性, 有利于大气和土壤之间的气体交换, 改善了土壤理化性状^[38]。Piotrowska 等^[22]研究发现不透水硬化地表下土壤微

生物荧光素二乙酸酯水解酶和硝酸还原酶活性比透水硬化地表下低,Morgenroth 等^[12-13]通过研究也发现不透水硬化地表下植物的生长比透水硬化地表下差,进入土壤有机物将减少。(2)硬化地表下土壤微生物群落的变化主要体现在对环境压力的响应上,如 sat/mono、cy/pre 值升高^[39-40]。与 C 相比,IP 下土壤微生物磷脂脂肪酸 F/B 比值显著降低,sat/mono 比值显著升高,P 下无显著变化;P 和 IP 下土壤微生物磷脂脂肪酸 cy/pre 比值都显著高于 C,IP 下土壤微生物 cy/pre 比值显著高于 P。sat/mono 和 cy/pre 这些压力指标一般反应土壤微生物受到土壤温度、水分、养分以及物理胁迫的程度。与 P 相比,IP 下雨水几乎无法下渗,凋落物也无法回土,导致土壤微生物的环境胁迫更大。可见,硬化地表不利于土壤微生物的生长,不透水硬化地表下土壤微生物受到的影响更大。

本研究以硬化地表下的油松和白蜡林间土为研究对象,研究了不同树种土壤微生物对不同类型硬化地表的响应。对两个树种在两种类型硬化地表下土壤微生物 PLFA 结构做主成分分析(图 3),油松 PC1 能将 3 个硬化处理显著区分开,与油松 PC1 显著相关的 PLFA 结构主要是真菌和放线菌;白蜡 PC2 能将 3 个硬化处理显著区分开,与白蜡 PC2 显著相关的 PLFA 结构都是细菌,表明硬化地表改变了两个树种土壤微生物菌群的主导形式。油松和白蜡分别属于常绿树和落叶树,Polyakova 和 Billor 研究发现不同树种凋落物不同^[41],凋落物与土壤微生物群落结构和功能变化密不可分,可能由于硬化地表阻隔凋落物进入土壤改变了土壤微生物群落组成及数量造成菌群主导形式的变化。本研究发现油松土壤真菌、AMF 的数量及 F/B 值在 P 和 IP 下都显著降低,表现为 C>P,IP,表明硬化地表使油松土壤微生物群落向细菌主导型转化;白蜡土壤细菌和 AMF 在 P 和 IP 下均显著降低,表现为 C>IP>P,真菌和放线菌表现为 C>P,表明透水硬化对白蜡土壤微生物的不利影响更大。Francini 等^[23]发现落叶树和常绿树对土壤微生物群落结构的影响不同,落叶树白蜡由于产生易分解的富含氮的凋落物,其土壤微生物一般以细菌为主导,而常绿树油松土壤微生物一般以真菌为主导^[42],油松土壤微生物向细菌主导型的转化也意味着油松土壤微生物群落功能的衰减。油松土壤压力指标 cy/pre 表现为 IP>P>C,sat/mono 表现为 IP>C,表明不透水硬化地表对油松土壤造成的环境压力更大,Xu 等^[43]发现土壤 pH 值是城市土壤微生物群落变化的一个主要驱动因子,本研究中油松在硬化地表下土壤 pH 值降低(表 1)可能是土壤环境压力增大的原因;Montague 等^[15]发现不同类型硬化地表温度及表层土壤温度不同,而种植不同树种也会改变土壤温度及水分含量,土壤温度和水分的变化也可能是土壤环境压力变化的原因,同时,土壤环境压力的变化也会造成微生物结构和功能的变化。土壤微生物对单一碳源的利用做主成分分析(图 5),白蜡 PC2 能将 3 个硬化处理显著区分开,说明硬化地表对改变了白蜡土壤微生物对碳源的利用导致土壤微生物功能的变化,本研究发现油松土壤微生物对糖类、氨基酸类和聚合物的利用比白蜡高,可能与分泌物数量有关,Polyakova 和 Billor 认为常绿树的根系分泌物较落叶树高^[41]。

4 结论

硬化地表降低土壤微生物数量、丰富度及多样性指数,增加土壤微生物环境胁迫,改变土壤微生物群落结构,削弱土壤微生物群落功能,透水硬化对土壤微生物的负效应有一定的减缓作用,不同树种对硬化地表的响应存在差异。不同树种和硬化地表类型对土壤微生物的影响存在交互作用。硬化地表是城市环境的主要特征,城市绿化树木也是城市必不可少的生态因子,二者在城市生态系统中的功能是复杂的,对土壤微生物的影响非常重要,但城市环境中影响土壤微生物的因素又是多样的。本研究采用原位模拟的试验方法研究 5 年生绿化树木林间土壤微生物对硬化地表的响应,考虑到城市硬化地表的长期性,本结果也具有一定的局限性,但总体上能说明硬化地表对土壤微生物的影响趋势。对于城市硬化地表对土壤微生物群落的影响机制以及不同树种土壤微生物群落对硬化地表的响应机理,还需要结合其他环境因子以及实地观测结果作进一步验证。

参考文献(References):

- [1] Lahariya C. The state of the world population 2007: unleashing the potential of urban growth. *Indian Pediatrics*, 2008, 45(6): 481-482.
- [2] Lehmann A, Stahr K. Nature and significance of anthropogenic urban soils. *Journal of Soils and Sediments*, 2007, 7(4): 247-260.

- [3] Yan Y, Kuang W H, Zhang C, Chen C B. Impacts of impervious surface expansion on soil organic carbon—a spatially explicit study. *Scientific Reports*, 2015, 5: 17905.
- [4] European Environment Agency. Urban Sprawl in Europe – The Ignored Challenge. Copenhagen: European Environment Agency, 2006.
- [5] Lee J G, Heaney J P. Estimation of urban imperviousness and its impacts on storm water systems. *Journal of Water Resources Planning and Management*, 2003, 129(5): 419-426.
- [6] Asaeda T, Ca V T, Wake A. Heat storage of pavement and its effect on the lower atmosphere. *Atmospheric Environment*, 1996, 30(3): 413-427.
- [7] Viswanathan B. Effect of Pervious and Impervious Pavement on the Rhizosphere of American Sweetgum (*Liquidambar styraciflua*) [D]. Texas: Texas A & M University, 2010.
- [8] Feng G, Wu L, Letey J. Evaluating aeration criteria by simultaneous measurement of oxygen diffusion rate and soil–water regime. *Soil Science*, 2002, 167(8): 495-503.
- [9] De Ridder K, Adamec V, Bañuelos A, Bruse M, Bürger M, Damsgaard O, Dufek J, Hirsch J, Lefebvre F, Pérez-Lacorzana J M, Thierry A, Weber C. An integrated methodology to assess the benefits of urban green space. *Science of the Total Environment*, 2004, 334-335: 489-497.
- [10] Volder A, Viswanathan B, Watson W T. Pervious and impervious pavement reduce production and decrease lifespan of fine roots of mature Sweetgum trees. *Urban Ecosystems*, 2014, 17(2): 445-453.
- [11] Grabosky J, Bassuk N, Irwin L, Van Es H. Shoot and root growth of three tree species in sidewalks. *Journal of Environmental Horticulture*, 2001, 19(4): 206-211.
- [12] Morgenroth J, Visser R. Aboveground growth response of *Platanus orientalis* to porous pavements. *Arboriculture & Urban Forestry*, 2011, 37(1): 1-5.
- [13] Morgenroth J. Root growth response of *Platanus orientalis* to porous pavements. *Arboriculture & Urban Forestry*, 2011, 37(2): 45-50.
- [14] Volder A, Watson T, Viswanathan B. Potential use of pervious concrete for maintaining existing mature trees during and after urban development. *Urban Forestry & Urban Greening*, 2009, 8(4): 249-256.
- [15] Montague T, Kjelgren R. Energy balance of six common landscape surfaces and the influence of surface properties on gas exchange of four containerized tree species. *Scientia Horticulturae*, 2004, 100(1/4): 229-249.
- [16] Philip E, Azlin Y N. Measurement of soil compaction tolerance of *Lagestomia speciosa* (L.) Pers. using chlorophyll fluorescence. *Urban Forestry & Urban Greening*, 2005, 3(3/4): 203-208.
- [17] Zhao D, Li F, Wang R S, Yang Q R, Ni H S. Effect of soil sealing on the microbial biomass, N transformation and related enzyme activities at various depths of soils in urban area of Beijing, China. *Journal of Soils and Sediments*, 2012, 12(4): 519-530.
- [18] Morgenroth J, Buchan G, Scharenbroch B C. Belowground effects of porous pavements—soil moisture and chemical properties. *Ecological Engineering*, 2013, 51: 221-228.
- [19] Chen Y Y, Wang X K, Jiang B, Yang N, Li L. Pavement induced soil warming accelerates leaf budburst of ash trees. *Urban Forestry & Urban Greening*, 2016, 16: 36-42.
- [20] Seto K C, Güneralp B, Hutyra L R. Global forecasts of urban expansion to 2030 and direct impacts on biodiversity and carbon pools. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(40): 16083-16088.
- [21] Wei Z Q, Wu S H, Zhou S L, Lin C. Installation of impervious surface in urban areas affects microbial biomass, activity (potential C mineralisation), and functional diversity of the fine earth. *Soil Research*, 2013, 51(1): 59-67.
- [22] Piotrowska-Długosz A, Charzyński P. The impact of the soil sealing degree on microbial biomass, enzymatic activity, and physicochemical properties in the Ekranic Technosols of Toruń (Poland). *Journal of Soils and Sediments*, 2014, 15(1): 47-59.
- [23] Francini G, Hui N, Jumpponen A, Kotze D J, Romantschuk M, Allen J A, Setälä H. Soil biota in boreal urban greenspace: Responses to plant type and age. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 118: 145-155.
- [24] Zelles L. Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. *Chemosphere*, 1997, 35(1/2): 275-294.
- [25] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29(2): 111-129.
- [26] Buyer J S, Drinkwater L E. Comparison of substrate utilization assay and fatty acid analysis of soil microbial communities. *Journal of Microbiological Methods*, 1997, 30(1): 3-11.
- [27] 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.
- [28] 吴金水, 林启美, 黄巧云, 肖和艾. 土壤微生物生物量测定方法及其应用. 北京: 气象出版社, 2006.
- [29] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, 37(8): 911-917.
- [30] 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.
- [31] Frostegård A, Bååth E. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 22(1/2): 59-65.
- [32] Dickens S J M, Allen E B, Santiago L S, Crowley D. Exotic annuals reduce soil heterogeneity in coastal sage scrub soil chemical and biological characteristics. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 58(2): 70-81.
- [33] Potthoff M, Steenwerth K L, Jackson L E, Drenovsky R E, Scow K M, Joergensen R G. Soil microbial community composition as affected by restoration practices in California grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(7): 1851-1860.
- [34] Olsson P A. Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil. *Fems Microbiology Ecology*, 1999, 29(4): 303-310.
- [35] Wu Y P, Ma B, Zhou L, Wang H Z, Xu J M, Kemmitt S, Brookes P C. Changes in the soil microbial community structure with latitude in eastern China, based on phospholipid fatty acid analysis. *Applied Soil Ecology*, 2009, 43(2/3): 234-240.
- [36] Diedhiou S, Dossa E L, Badiane A N, Diedhiou I, Sène M, Dick R P. Decomposition and spatial microbial heterogeneity associated with native shrubs in soils of agroecosystems in semi-arid Senegal. *Pedobiologia*, 2009, 52(4): 273-286.
- [37] De Vries F T, Bardgett R D. Plant-microbial linkages and ecosystem nitrogen retention: lessons for sustainable agriculture. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2012, 10(8): 425-432.
- [38] Bean E Z, Hunt W F, Bidelsbach D A. Evaluation of four permeable pavement sites in eastern North Carolina for runoff reduction and water quality impacts. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, 2007, 133(6): 583-592.
- [39] 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.
- [40] Kieft T L, Ringelberg D B, White D C. Changes in ester-linked phospholipid fatty acid profiles of subsurface bacteria during starvation and desiccation in a porous medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60(9): 3292-3299.
- [41] Polyakova O, Billor N. Impact of deciduous tree species on litterfall quality, decomposition rates and nutrient circulation in pine stands. *Forest Ecology and Management*, 2007, 253(1/3): 11-18.
- [42] Wardle D A, Bardgett R D, Klironomos J N, Setälä H, Van Der Putten W H, Wall D H. Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 2004, 304(5677): 1629-1633.
- [43] Xu H J, Li S, Su J Q, Nie S A, Gibson V, Li H, Zhu Y G. Does urbanization shape bacterial community composition in urban park soils? A case study in 16 representative Chinese cities based on the pyrosequencing method. *Fems Microbiology Ecology*, 2014, 87(1): 182-192.