

DOI: 10.5846/stxb201905241073

王楠, 潘小承, 白尚斌. 模拟酸雨对我国亚热带毛竹林土壤呼吸及微生物多样性的影响. 生态学报, 2020, 40(10): 3420-3430.

Wang N, Pan X C, Bai S B. Effects of simulated acid rain on soil respiration and microbial diversity in Moso bamboo forest in subtropical China. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(10): 3420-3430.

模拟酸雨对我国亚热带毛竹林土壤呼吸及微生物多样性的影响

王楠^{1,2,*}, 潘小承², 白尚斌²

1 东北林业大学林学院, 哈尔滨 150040

2 浙江农林大学浙江省森林生态系统碳循环与固碳减排重点实验室, 杭州 311300

摘要: 酸沉降造成的土壤持续酸化对毛竹林生态系统碳循环具有重要的影响, 为量化酸沉降我国亚热带毛竹林土壤的影响, 于 2016 年在浙江省杭州临安天目山国家级自然保护区毛竹林持续开展了 2 年野外模拟酸雨淋溶土壤实验, 设置 pH 4.0 (T1) 和 pH 2.0 (T2) 两个模拟酸雨处理, 以 pH 5.8 天然湖水为对照 (CK), 分析酸雨作用下土壤 CO₂ 排放及土壤微生物多样性的变化趋势, 并明确毛竹林土壤呼吸、土壤微生物及土壤理化性质三者之间的关系。结果表明: 土壤呼吸速率在酸雨作用下经过缓冲期后呈现先促进后抑制的变化, 作用强度表现为: T2>T1。不同处理的土壤呼吸对温度的敏感性由高到低依次是: T2、CK、T1。PCR-DGGE 分析表明, 模拟酸雨改变了土壤微生物菌群结构, T2 处理抑制了土壤细菌的多样性和丰富度, 而 T1 处理对土壤真菌多样性和丰富度具有促进作用。土壤 pH 值、有效钾、可溶有机碳、微生物量碳、碱解氮和有效磷对土壤微生物群落结构及土壤呼吸具有显著的影响 ($P<0.05$)。综上所述, 模拟酸雨能够显著抑制毛竹林的土壤呼吸, 并改变土壤微生物群落结构及多样性, 这些结果为进一步研究毛竹林土壤生态系统对环境问题响应机制提供理论基础。

关键词: 毛竹; 模拟酸雨; 土壤呼吸; 土壤温度; 微生物多样性

Effects of simulated acid rain on soil respiration and microbial diversity in Moso bamboo forest in subtropical China

WANG Nan^{1,2,*}, PAN Xiaocheng², BAI Shangbin²

1 College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

2 Zhejiang Provincial Key Laboratory of Carbon Cycling in Forest Ecosystems and Carbon Sequestration, Zhejiang Agricultural and Forestry University, Hangzhou 311300, China

Abstract: Acid rain is an important phenomena in global climate change and it can strongly influence forest ecology. Many studies have shown the impacts of acid rain on soil respiration, but the results are very different due to the different species and environmental conditions. The persistent acidification of soil caused by acid rain has an important impact on the carbon cycle of the Moso bamboo forest ecosystem. To quantify the effect of acid rain on the soil ecosystem of Moso bamboo forest in subtropical China, the experiment of soil by simulated acid rain in the field was carried out for two years of 2016—2018. Two treatments of the simulated acid rain with pH value of 4.0 (T1) and 2.0 (T2) were set, at the same time taking pH value of 5.8 (CK) as control. The relationship between soil CO₂ emission and soil microbial diversity in the Moso bamboo forest of Tianmu Mountain National Nature Reserve under the simulated acid rain was analyzed, and the relationship between soil respiration, soil microbial and soil physical and chemical properties in subtropical Moso bamboo forest was

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31770680); 浙江省自然科学基金项目 (LY15C160005, LQ19C160013)

收稿日期: 2019-05-24; **修订日期:** 2020-03-18

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wangnan198110@163.com

determined. The results showed that soil respiration rate increased firstly and then decreased after the buffer period under the action of acid rain, and the intensity of the action was $T2 > T1$. The sensitivity of soil respiration to temperature in different treatments from high to low was $T2$, CK , $T1$, and increased seasonally with increasing temperature. PCR-DGGE analysis showed that strong acid rain treatment inhibited the growth of soil bacterial community and the order of soil bacteria diversity and richness from high to low was CK , $T1$, and $T2$. The weak acid rain had a positive effect on the diversity and abundance of soil fungi, and the opposite was strong acid rain. The effects of acid rain resulted in the decrease or disappearance of *Bacillus*, *Caulobacter*, *Cystobacteraceae*, *Bradyrhizobium* and *Candida*, as well as inhibiting soil respiration, while *Carnobacterium*, *Propionibacterium*, and *Clostridium* played greater roles in soil respiration under the simulated acid rain. Soil pH, available potassium, soluble organic carbon and microbial biomass carbon were closely and positively correlated with the soil microbial community structure under simulated acid rain treatment, while alkali nitrogen and available phosphorus were negatively correlated with the soil microbial community structure. In general, simulated acid rain can significantly inhibit soil respiration in Moso bamboo forests, and change soil microbial community structure and diversity. These results provide theoretical basis for further study on the response mechanism of soil ecosystem of Moso bamboo forest to environmental problems.

Key Words: Moso bamboo; simulated acid rain; soil respiration; soil temperature; microbial diversity

酸雨作为全球性环境问题之一,已受到国际社会普遍关注^[1]。我国酸雨区面积仍不断扩大,危害程度逐渐加重,已超过国土面积的 40%,成为继欧美之后的第三大酸雨区域,其中亚热带地区酸雨污染尤为严重^[2]。浙江位于我国中亚热带,全省平均酸雨率超过 80%,是酸雨发生典型区域^[3]。酸雨给森林生态系统带来严重影响和破坏,不仅对植物叶片造成直接损害,使叶片变黄甚至脱落,影响植物光合作用,而且可导致土壤酸化,造成钾、钙、镁等盐基离子淋溶,从而使土壤贫瘠,影响植物正常生长发育^[4]。同时,土壤酸化使 Al^{3+} 增加,引起铝中毒,毒害植物根系^[5]。土壤酸化还能促进 H^+ 浓度增加,引起土壤微生物群落组成和结构发生变化,不可避免地影响着土壤碳循环过程^[6-7]。

土壤呼吸作为陆地生态系统碳循环的一个主要组分,在调控大气 CO_2 浓度和气候变化方面起着关键作用^[8]。土壤碳库是大气碳库的 4 倍,土壤呼吸释放碳的速率比人类活动释放碳的速率要大一个数量级,其微小变化能极大改变大气 CO_2 浓度^[9]。森林是陆地生态系统的主体,其碳库占全球总碳库的 46%,占土壤呼吸总量的 69%,因此,森林土壤呼吸成为陆地生态系统土壤呼吸的重要组分,其动态变化也对全球碳平衡影响深远^[10]。土壤呼吸主要包括植物根系呼吸和土壤微生物分解两个过程,呼吸速率受植被特征、气候、水热条件、环境变化等诸多因素影响。酸雨可通过影响植物根系生长及影响微生物组成和活性变化来改变森林土壤呼吸速率^[7]。一些研究认为酸雨促进了土壤呼吸^[11],也有研究认为酸雨会抑制或不影响土壤呼吸速率^[12]。目前关于酸雨影响森林土壤呼吸还未有明确定论,有待进一步深入研究。

竹林是世界重要的森林类型之一,蕴含着巨大的固碳增汇潜力。我国竹子有 39 属,500 余种,面积约 601 万公顷,是竹子资源最丰富的国家,其中毛竹林(*Phyllostachys edulis*) 面积约占 73.8%。毛竹具有较高的社会和经济效益,是应对全球变化的重要树种,已得到广泛推广种植^[13-14]。影响毛竹林土壤呼吸的环境因子诸多,其中酸雨胁迫是一个主要因素,然而关于酸雨对毛竹林土壤呼吸的影响及其微生物学响应机制研究却相对较少^[15]。因此,本文以我国热带区域分布较多的毛竹林为研究对象,采用 PCR-DGGE 技术,探讨酸雨对毛竹林土壤细菌和真菌群落结构及多样性的影响,及其与土壤呼吸的关联,揭示土壤碳释放模式的变化,从而为进一步研究亚热带毛竹林土壤碳释放对环境问题的响应提供理论基础。

1 研究地区与研究方法

1.1 研究地区概况

研究区域位于浙江省杭州临安天目山国家级自然保护区($30^{\circ}18'30''$ — $30^{\circ}21'37''N$, $119^{\circ}24'11''$ —

119°27'11" E),保护区海拔 300—1500 m,属北亚热带季风气候,四季分明,温暖湿润,年均气温 14.5℃,年平均降雨量 1400 mm。其森林植被大体分为 6 种类型:常绿阔叶林,常绿落叶阔叶混交林,落叶阔叶林、针阔混交林,针叶林、毛竹林。毛竹林主要分布在海拔 350—950 m。林冠层树种主要有青冈(*Cyclobalanopsis glance*)、木荷(*Schima superba*)、苦槠(*Castanopsis sclerophylla*)、毛竹(*Phyllostachys pubescens*)等;灌木层有毛花连蕊茶(*Camellia fraternal*)、山矾(*Symplocos caudate*)和山胡椒(*Lindera glauca*)等;草本层有菊科(Compositae)和禾本科(Gramineae)等植物^[16]。

1.2 试验样地设计

实验样地位于海拔 485 m 的毛竹林内,共设置 3 个样地,在每个实验样地分别设置 2 个模拟酸雨小区和 1 个对照小区,在处理 1(T1)小区喷洒 pH 4.0 的模拟酸雨;在处理 2(T2)小区中喷洒 pH 2.0 的模拟酸雨;在对照(CK)小区喷洒 pH 值约为 5.8 的当地湖水。3 个样地呈三角形分布,间隔距离 100 m,同一样地的各处理在同一水平地上,缓冲间隔 5 m,每个小区面积为 1 m×1 m,3 个样地共计 9 个小区。参照临安市以往的常规酸雨监测资料^[6],按照 H₂SO₄:HNO₃=8:1 的摩尔比配置模拟酸雨母液,再用母液与去离子水配成相应 pH 值的模拟酸雨。自 2016 年 9 月开始模拟酸雨处理,喷淋频率为每两周一次(如遇雨天或土壤湿度过大情况则顺延,另择时间进行喷淋,以防止喷洒的酸雨被地表径流输出)。每个小区每次喷洒酸雨量为 1 mm,对照小区等量喷洒 pH 5.8 的湖水。

1.3 土壤呼吸速率及温度测定

从 2016 年 9 月开始,进行了为期 2 年的土壤呼吸观测试验。预先把直径 20 cm、高 10 cm 的土壤呼吸底座埋入每个小区,将 PVC 环的一端沿坡面压入土中约 5 cm 深,尽量减少布置 PVC 环对土壤的镇压作用,基座埋设过程中尽量不破坏土壤,以减少土壤扰动及根系损伤对测量结果的影响,PVC 环在整个测量期间位置不变^[17]。试验期间,定期去除掉底座内的植物,以避免测定的土壤呼吸包含植株呼吸作用。

于每个观测日 8:00—12:00 采用 Li-8100 土壤碳通量观测系统(Li-COR, Lincoln, Nebraska, USA)测定土壤呼吸,测定频率为每月 2 次,每次每个 PVC 环重复测定 3 次,取其平均值代表该次测定值,土壤呼吸测定在每次模拟酸雨喷洒前进行。在测定土壤呼吸的同时,采用 Li-8100 土壤碳通量观测系统自带的温度探头测 5 cm 深处的土壤温度。

1.4 土壤生化指标的测定

于 2018 年 8 月(模拟酸雨二年后)进行土壤采集。分别在每个小区的四角与中心布设 5 个取样点,采用无菌土钻取表层大约 5—20 cm 深度的土壤样品,更换样地取样前对工具采取清洗杀菌措施。每个取样点中大约取出 0.5 kg 的土壤样品,然后将每个土样分为 2 份,一份土样装入无菌自封样品袋中并置于 4℃ 电子恒温箱中,9 个小区中共获取 45 份土样,用于测定土壤化学性质。将同一小区剩余 5 份土样充分混合,过 2 mm 筛网,去除杂草与石块后装入无菌自封样品袋中,并储存于 -80℃ 的干冰保温箱中,用于提取 DNA,共获取 9 个土壤微生物样品。

土壤 pH 值采用 1:2.5 土水比,电位法测定;土壤溶解性有机碳(Soil dissolved organic carbon, DOC)使用高纯度水浸提,取上清液过 0.45 μm 滤膜后使用岛津 TOC-VCPH 分析仪测定;碱解氮(Available nitrogen, AN)采用碱解蒸馏法测定;有效磷(Available phosphorous, AP)采用钼锑抗分光光度法测定;速效钾(Available potassium, AK)采用火焰原子吸收法测定;土壤微生物生物量碳(Soil microbial biomass of carbon, MBC)采用氯仿熏蒸-K₂SO₄浸提法测定^[18]。

1.5 土壤细菌和真菌的变性梯度电泳(DGGE)

采用 DGGE 方法对土壤细菌和真菌进行检测,细菌采用 16S rDNA-PCR 扩增所用一对通用引物 338F-GC 和 518R,扩增片段长约 250 bp;真菌 18S rDNA-PCR 扩增所用一对通用引物 FR1-GC 和 FF390,扩增片段长约 390 bp。20 μL 反应体系如下:10×Premix Tap 10 L,引物(10 μmol/L)各 0.2 μL,模板 DNA 0.3 μL,牛血清蛋白(BSA, 20 mg/mL)0.2 μL。细菌的 PCR 反应参数:94℃ 预变性 5 min,94℃ 变性 1 min,50℃ 退火 1 min,72℃ 延

伸 1 min, 30 个循环, 最后 72℃ 延伸 10 min。真菌的 PCR 反应参数: 95℃ 预变性 8 min, 94℃ 变性 30 s, 50℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 2 min, 30 个循环, 最后 72℃ 延伸 10 min。取 3 μL PCR 产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测产物及其浓度^[19]。

采用 The DCode™ Universal Mutation Detection System (Bio-Rad), 细菌扩增产物在变性梯度为 45%—60% 的 6% 聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳。真菌扩增产物在变性梯度为 25%—40% 的 6% 聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳。细菌和真菌的电泳过程条件一致: 在 60℃、80 V 条件下电泳 13 h, 使用 SYBR green I 染色 0.5 h, 染色结果于 Gel Doc TM EQ (Bio-Rad) 凝胶成像系统成像, 使用 Quantity One 4.4 软件 (Bio-Rad) 进行图像分析。

1.6 数据分析

土壤呼吸速率与土壤 5 cm 深温度的关系采用如下指数模型:

$$R = \alpha e^{bT}$$

式中, R 为土壤呼吸速率; T 为土壤 5 cm 深温度; α 是温度为 0℃ 时土壤呼吸速率; b 为温度反应系数。

Q_{10} 值的计算公式^[20]:

$$Q_{10} = e^{10b}$$

Shannon 多样性指数 (H)、Margalef 丰富度指数 (D) 以及 Pielou 均匀度指数 (E) 对土壤细菌微生物群落多样性进行分析^[21], 其计算公式为:

$$H = -\sum (n_i / N) \ln (n_i / N)$$

$$D = (S-1) / \ln N$$

$$E = H / \ln S$$

式中, n_i 为每条电泳条带光密度峰值, N 为同一泳道中所有条带光密度峰值总和。电泳条带光密度的峰值通过分析软件 Quantity one 进行读取。

采用 Origin Pro8.0 软件对数据进行处理和绘图, 采用 Pearson 法进行相关性分析, 采用 t 检验进行不同处理土壤呼吸速率的均值比较, 采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和最小显著差异法 (LSD) 对 3 种处理间土壤呼吸速率进行方差分析和多重比较, 用 Curve Estimation 对土壤呼吸速率与土壤温度关系进行回归分析, R 语言 vegan 包进行冗余分析 (Redundancy Analysis, RDA) 和作图。

2 结果与分析

2.1 不同酸雨处理土壤呼吸的季节变化

土壤呼吸速率具有明显的季节动态规律, 最高值出现在 7—8 月, 最低值出现在 12 月份至次年 2 月期间。如图 1 所示, 观测期可分为 5 个阶段: 阶段 1 (2016 年 9 月—2017 年 2 月) 模拟酸雨对土壤呼吸速率的影响没有显著差异; 阶段 2 (2017 年 3 月—2017 年 6 月) 模拟酸雨对土壤呼吸速率产生了促进作用, 模拟强酸降雨样地与对照之间具有显著差异 ($P < 0.05$); 阶段 3 (2017 年 7 月—2017 年 10 月) 模拟强酸降雨与对照样地、模拟弱酸降雨样地之间具有显著差异 ($P < 0.05$), 而对照样地与模拟弱酸降雨样地之间的差异不显著, 阶段 4 (2017 年 11 月—2018 年 2 月) 模拟酸雨对土壤呼吸速率的影响没有显著差异; 阶段 5 (2018 年 3 月—2018 年 8 月) 模拟酸雨对土壤呼吸速率产生了抑制作用, 且模拟强酸降雨样地与对照之间具有及显著差异 ($P < 0.05$)。

2.2 不同酸雨处理土壤呼吸与土壤温度的关系

根据对土壤温度检测数据分析 (图 2), 土壤呼吸速率与土壤温度的季节变化趋势相近, 呈显著正相关关系, 方差分析表明不同模拟酸雨处理的土壤温度无显著差异, 年均土壤温度为 16.6℃。

回归分析表明, CK、T1、T2 处理的土壤呼吸与土壤温度之间呈极显著的指数回归关系 (表 1), 这 3 个小区的回归方程的决定系数 R^2 分别为 0.960、0.937、0.845, 这表明土壤温度可分别解释这 3 个小区土壤呼吸 96.0%、93.7%、84.5% 的季节变异。根据指数回归方程估算得到的 CK、T1、T2 处理的土壤呼吸的温度敏感系数 (Q_{10}) 分别为 2.14、2.10、2.86。T2 与 T1 和 CK 间差异显著, T1 与 CK 间无显著性差异, 这一结果表明, 重度

酸雨处理增加了温度敏感性。

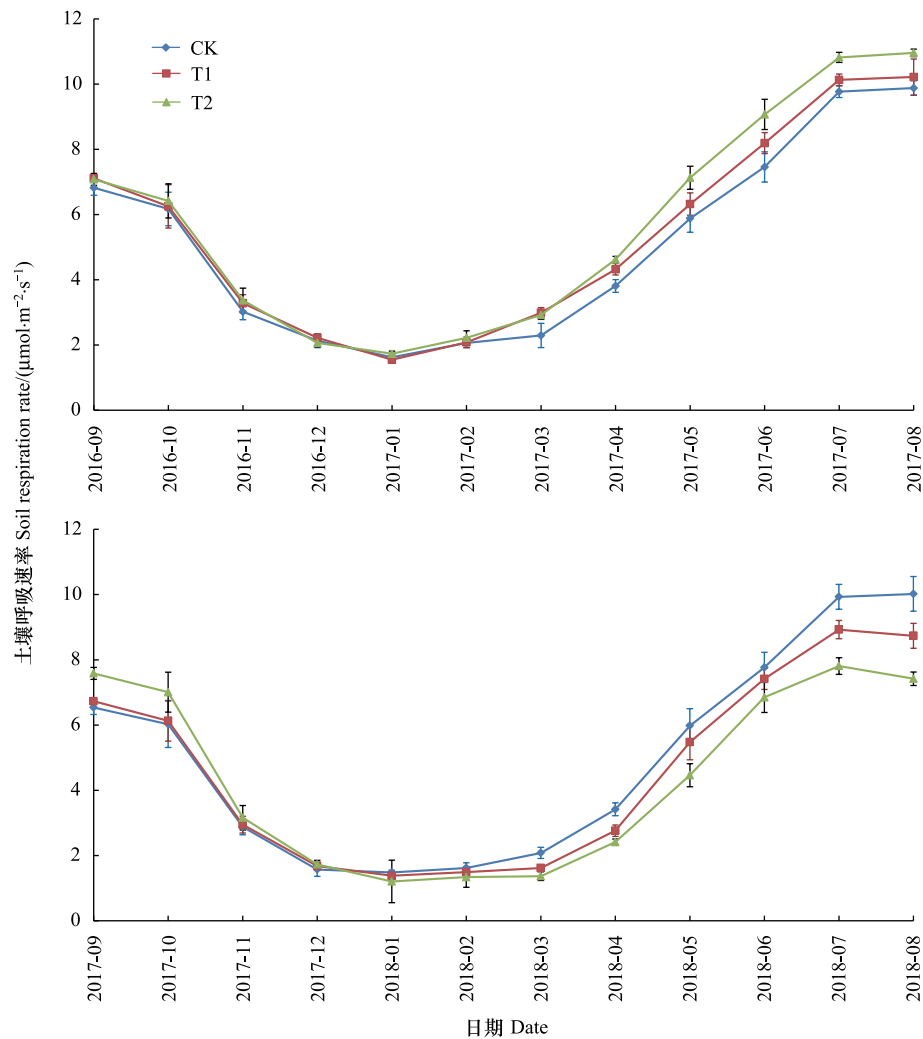


图1 不同酸雨处理下毛竹林土壤呼吸动态变化

Fig.1 Dynamic change of soil respiration in moso bamboo under different acid rain treatments during 2016—2018

CK:对照处理, control treatment;T1:处理一,treatment 1;T2: 处理二,treatment 2

表1 不同 pH 值酸雨处理的毛竹林土壤呼吸速率与温度相关性

Table 1 Relationships between soil respiration rate and soil temperature in the Moso bambao under different pH value treatments

处理 Treatment	拟合方程 Fitted equation	R^2	Q_{10}
CK	$y = 1.129e^{0.0767T}$	0.960 **	2.14b
T1	$y = 1.129e^{0.0747T}$	0.937 **	2.10b
T2	$y = 1.193e^{0.1057T}$	0.845 **	2.86a

不同字母表示同一列内各均值存在显著差异 ($P < 0.05$); * 表示显著相关 ($P < 0.05$), ** 表示极显著相关 ($P < 0.01$); CK: 对照处理, control treatment; T1: 处理一, treatment 1; T2: 处理二, treatment 2

2.3 不同酸雨处理土壤理化性质的差异

模拟酸雨对土壤 pH 值、养分及碳、氮含量的影响差异显著(表 2)。T2 处理土壤的平均 pH 值比 CK 处理低 17.31%,比 T1 处理低 14.00%;T2 处理土壤有机质含量比 CK 低 47.55%,比 T1 处理低 30.67%;CK 处理土壤 DOC、AK、MBC 的含量分别是 T1 处理的 1.22、1.16、1.01 倍,分别是 T2 处理的 1.39、1.36、1.06。T2 处理土壤 AN、AP 的含量分别是 CK 处理的 1.09、1.67 倍,T1 的 1.05、1.62 倍。由此可见,不同强度的酸雨对土壤理

化性质和微生物量具有显著的影响。

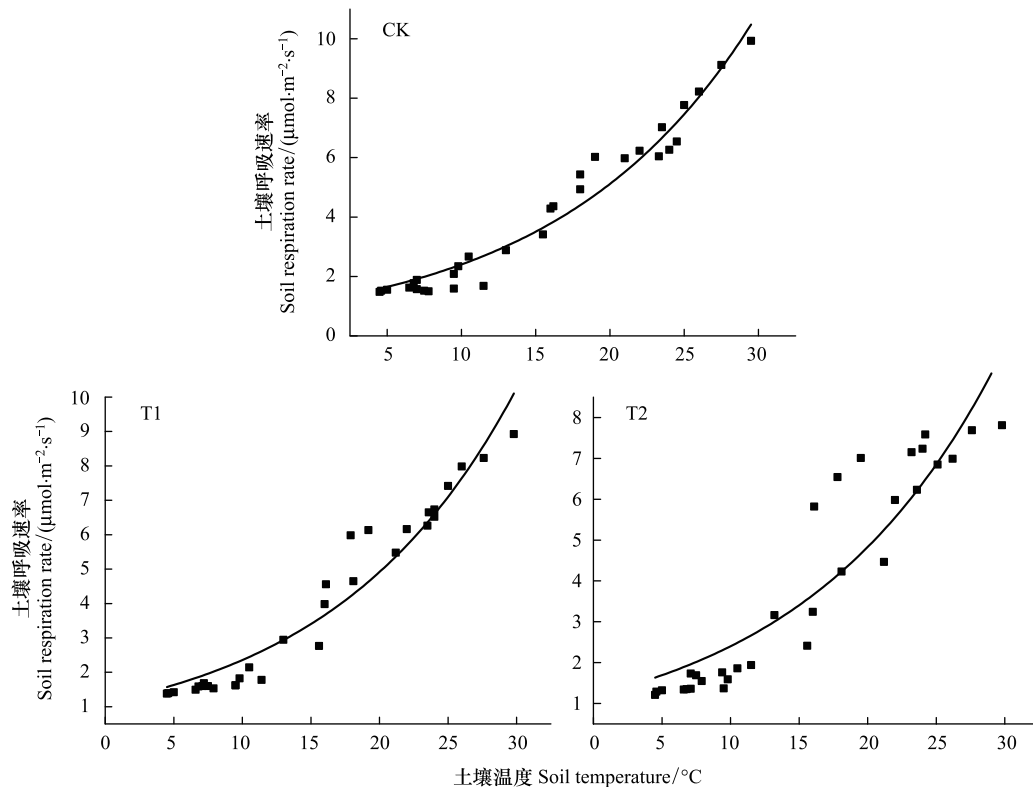


图 2 土壤呼吸与土壤温度的关系

Fig.2 Relationship between soil respiration and soil temperature

表 2 不同酸雨处理下土壤理化性质和微生物量

Table 2 Soil physicochemical properties and microbial biomass under different acid rain treatments

处理 Treatment	pH	碱解氮 Available N/ (mg/kg)	有效磷 Available P/ (mg/kg)	速效钾 Available K/ (mg/kg)	可溶性有机碳 Dissolved organic carbon/(mg/kg)	微生物量碳 Microbial biomass carbon/(mg/kg)
CK	5.2±0.04a	221.82±3.14c	3.50±0.07b	44.68±3.40a	138.38±2.04a	607.71±0.38a
T1	5.0±0.08b	230.45±2.68b	3.59±0.09b	38.52±0.59b	113.57±3.96b	598.78±2.42b
T2	4.3±0.03c	242.83±4.49a	5.83±0.10a	32.78±2.20b	99.55±1.27c	573.08±2.02c

不同字母表示同一列内各均值存在显著差异 ($P<0.05$) ; CK: 对照处理, control treatment; T1: 处理一, treatment 1; T2: 处理二, treatment 2

2.4 不同酸雨处理土壤细菌和土壤真菌多样性

模拟酸雨实验 2 年后,对不同处理的土壤微生物群落采用 DGGE 技术检测,确定了共 30 条 DGGE 带。结果表明,模拟酸雨处理的所有样品中均含有 8 个 DGGE 谱带(3、7、11、13、14、23、28 和 30)。在这些条带中,3、30 条带被鉴定为细菌,7、11、13、14、23、28 条带被分别鉴定为放线菌、分枝杆菌、硝化螺、酸性微生物和鞘氨醇菌。样品中含有一些共有菌群,如细菌、放线菌、厚壁菌门、硝化螺旋菌门和 α -变形菌。酸雨也造成了某些菌群的减少或消失,如带 4(茎菌属)、9(孢囊杆菌属)、12(慢生根瘤菌属)和 25(念珠菌属),同时,酸性条件也导致某些种类的增加,如带 5(肉食杆菌属)、6(丙酸杆菌属)、8(梭形芽孢杆菌属)。这说明在酸雨作用下这类微生物对土壤有机质降解和释放土壤二氧化碳中起着更大作用。

不同模拟酸雨处理的土壤细菌和土壤真菌多样性具有显著差异(表 3),模拟酸雨处理的土壤细菌群落多样性表现为降低,说明酸性胁迫抑制了土壤细菌群落的多样性。T2 处理的土壤细菌多样性与 CK 处理相比存在显著差异 ($P<0.05$),说明重度酸雨处理下土壤细菌群落对酸性环境的耐受性最低。而模拟酸雨处理的

土壤真菌群落多样性表现相反,T1 处理的土壤真菌多样性与 CK 处理和 T2 处理存在显著差异 ($P<0.05$),说明中度酸雨处理条件下土壤真菌群落对酸性环境的耐受性最高,弱酸可促进土壤真菌群落的多样性。

表 3 不同酸雨处理下土壤微生物群落的多样性指数

Table 3 Diversity index of soil microbiology community under different acid rain treatments

处理 Treatment	土壤细菌 Soil bacterial community			土壤真菌 Soil fungal community		
	Shannon 多样性指数 Shannon diversity index (<i>H</i>)	Margalef 丰富度指数 Margalef richness index (<i>D</i>)	Pielou 均匀度指数 Pielou evenness index (<i>E</i>)	Shannon 多样性指数 Shannon diversity index (<i>H</i>)	Margalef 丰富度指数 Margalef richness index (<i>D</i>)	Pielou 均匀度指数 Pielou evenness index (<i>E</i>)
CK	3.28±0.03a	3.54±0.02a	0.998±0.015a	2.22±0.04b	2.29±0.03b	0.999±0.014a
T1	2.97±0.02ab	3.16±0.06ab	0.991±0.024a	2.56±0.06a	2.79±0.07a	0.989±0.022a
T2	2.79±0.05b	2.88±0.03b	0.993±0.013a	2.24±0.02b	2.15±0.05b	0.992±0.025a

不同字母表示同一列内各均值存在显著差异 ($P<0.05$)

2.5 不同酸雨处理土壤性质与土壤微生物的关系

土壤性质与土壤细菌、土壤真菌 α 多样性指数的相关性分析表明(表 4),土壤细菌的 Shannon 多样性指数、Margalef 丰富度指数与碱解氮和有效磷呈显著或极显著负相关 ($P<0.01$),与 pH 值、速效钾、可溶性有机碳和微生物量碳呈显著或极显著正相关 ($P<0.01$);土壤真菌的 Shannon 多样性指数与碱解氮显著正相关 ($P<0.05$),与可溶性有机碳和微生物量碳呈显著或极显著负相关 ($P<0.01$),Margalef 丰富度指数与 pH 值、可溶性有机碳和微生物量碳呈显著负相关 ($P<0.05$),与碱解氮为显著正相关 ($P<0.05$)。

表 4 土壤微生物 α 多样性指数与土壤理化性质、微生物量的相关系数

Table 4 Correlation coefficients between soil microbial α -diversity indices and soil physicochemical properties, microbial biomass

多样性指数 Diversity index		pH	碱解氮 Available N	有效磷 Available P	速效钾 Available K	可溶性有机碳 Dissolved organic carbon	微生物量碳 Microbial biomass carbon
土壤细菌	Shannon 多样性指数 (<i>H</i>)	0.720 *	-0.817 **	-0.676 *	0.627 *	0.730 *	0.771 *
Soil bacteria	Margalef 丰富度指数 (<i>D</i>)	0.834 **	-0.873 **	-0.709 *	0.686 *	0.801 **	0.889 **
	Pielou 均匀度指数 (<i>E</i>)	0.458	-0.352	0.366	0.479	0.567	-0.248
土壤真菌	Shannon 多样性指数 (<i>H</i>)	-0.551	0.631 *	0.533	-0.482	-0.742 *	-0.898 **
Soil fungi	Margalef 丰富度指数 (<i>D</i>)	-0.638 *	0.724 *	0.479	-0.553	-0.687 *	-0.791 *
	Pielou 均匀度指数 (<i>E</i>)	-0.332	0.103	0.325	0.417	-0.257	0.228

* 表示显著相关 ($P<0.05$), ** 表示极显著相关 ($P<0.01$)

为了解释酸雨与土壤微生物群落结构及环境因子之间的关系,对不同模拟酸雨样地土壤微生物群落与环境因子进行冗余分析,可以看出 CK 与 T1、T2 之间具有明显地距离,这证实了之前的分析,即不同模拟酸雨处理样地的土壤微生物群落在差异很大程度上与环境变量有关。两轴累计贡献率为 97.74%,T1 和 T2 分布在第二排序轴正方向,CK 分布在第二排序轴负方向,表明不同模拟酸雨处理是第二排序轴的主要影响因素。pH、AK、DOC 和 MBC 与模拟酸雨处理的土壤微生物群落结构关系紧密且正相关,AN、AP 与土壤微生物群落结构负相关。排列检验显示 pH、DOC、AP、AN 和 MBC 对土壤细菌群落结构的影响最显著 ($P<0.05$) (图 3)。

2.6 不同酸雨处理土壤呼吸与土壤性质、土壤微生物的关系

土壤呼吸与土壤理化性质、土壤微生物 α 多样性指数的相关性分析表明(表 4),土壤呼吸与 pH 值、速效钾、可溶性有机碳、微生物量碳和细菌 Shannon 指数呈显著正相关 ($P<0.05$),与碱解氮和有效磷为显著负相关 ($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 不同酸雨处理土壤呼吸的差异性及控制因子

由于各地区的气候、土壤养分及植被类型等条件的不同,模拟酸雨对土壤呼吸的影响结果存在较大差异。Reth 等^[22]研究发现模拟酸雨抑制了土壤呼吸,这种抑制作用可能是氢离子高载荷对土壤微生物产生毒性所致。Fangueiro 等^[23]报道,低模拟酸雨强度反而促进了土壤呼吸。本研究结果表明,实验初期模拟酸雨对土壤呼吸无明显影响,这主要是由于土壤拥有巨大的缓冲体系,对酸性物质的输入具有很强的缓冲作用,毛竹林根系短期内对酸雨的耐受性较强。随着时间推进,在模拟酸雨作用下,土壤呼吸呈现出先增大后减小的趋势,酸雨的促进土壤呼吸作用可能是根细胞中维持蛋白质周转和溶质梯度所消耗的能量占根系维持呼吸的绝大部分,如果根系组织中的氮含量保持不变,那么根系呼吸也不会发生变化,而酸雨中的 NO³⁻的施肥作用恰恰增加了毛竹林根系细胞的氮含量,使得地下的土壤呼吸速率加强^[12]。模拟酸雨下森林的土壤酸化是个逐渐累积的过程,随着酸雨强度的增大和时间的推移,模拟酸雨对土壤呼吸产生抑制作用,这与其胁迫下土壤酸化从而导致土壤微生物活性及土壤养分流失有关。相关性分析表明(表 4),土壤呼吸与土壤细菌 α 多样性指数呈显著正相关($P<0.05$),土壤微生物活性下降,从而延缓了土壤有机物的矿化和分解速率,抑制了土壤 CO₂的释放,并呈现逐渐增强的趋势^[24]。

表 4 土壤呼吸与土壤微生物 α 多样性指数、土壤理化性质的相关系数

Table 4 Correlation coefficients between soil respiration and soil microbial α-diversity indices, soil physicochemical properties									
项目 Project	土壤呼吸 Soil respiration	pH	碱解氮 Available N	有效磷 Available P	速效钾 Available K	可溶性 有机碳 Dissolved organic carbon	微生物量碳 Microbial biomass carbon	细菌 多样性 Bacteria diversity	真菌 多样性 Fungi diversity
土壤呼吸 Soil respiration	1								
pH	0.752 *	1							
碱解氮 Available N	-0.778 *	-0.724 *	1						
有效磷 Available P	-0.783 *	-0.755 *	0.777 *	1					
速效钾 Available K	0.773 *	-0.893 *	0.422	-0.735 *	1				
可溶性有机碳 Dissolved organic carbon	0.741 *	-0.748 *	0.767 *	-0.750 *	0.776 *	1			
微生物量碳 Microbial biomass carbon	0.725 *	0.980 **	-0.750 *	-0.715 *	0.706 *	0.727 *	1		
细菌多样性 Bacteria diversity	0.739 *	0.720 *	-0.817 **	-0.676 *	0.627 *	0.730 *	0.771 *	1	
真菌多样性 Fungi diversity	0.412	0.631 *	0.533	-0.482	-0.742 *	-0.898 **	0.631 *	0.533	1

* 表示显著相关($P < 0.05$), ** 表示极显著相关($P < 0.01$)

酸雨对土壤微生物量碳的影响与酸雨胁迫下土壤持续酸化有关,通常 pH 值较低的土壤中微生物量碳含量相应较低^[25]。本研究在模拟酸雨的持续作用下,土壤微生物量碳的含量及土壤呼吸速率呈显著下降特征,

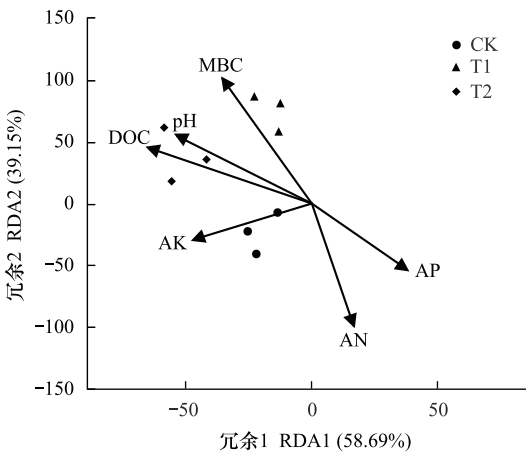


图 3 土壤微生物群落与环境影响因子的冗余分析
Fig. 3 RDA of soil microbial community and environmental factors

pH:酸碱度;AN:碱解氮, Available N;AP:有效磷, Available P;AK:速效钾, Available K;DOC:可溶性有机碳, Dissolved organic carbon; MBC:微生物量碳, Microbial biomass carbon

这是由于酸雨导致土壤 pH 改变,引起土壤微生物活性、功能及土壤微生物量碳的变化。该结果与王国兵等^[26]研究结论一致,土壤呼吸产生的 CO₂ 部分是由于微生物的自养呼吸和分解有机质和植物凋落物的异养呼吸而产生的,微生物生物量碳的减少间接地导致了土壤呼吸速率的减少^[27]。另外,酸雨使土壤 pH 值降低,有机质矿化速率下降,土壤腐殖质层 DOC 的释放量减少^[28]。本研究中毛竹林土壤溶解性有机碳呈随着酸雨强度增加而下降的趋势,可能由于 DOC 来源于凋落物的分解以及微生物代谢,微生物活减少,产生的水溶性有机物质也减少^[29-30]。因此,酸雨对土壤微生物活性的影响被认为是影响 DOC 释放的关键因素。

土壤温度是影响土壤呼吸季节性动态变化的最主要的因素,土壤呼吸为酶促反应,而土壤温度是影响酶促反应的重要因素,温度升高往往会导致酶促反应加快,从而促进土壤呼吸。本研究表明,酸雨各处理的土壤呼吸季节变化具有明显规律性,在不受土壤水分胁迫的条件下酸雨各处理的土壤呼吸与土壤温度之间遵循指数回归关系,这与 Nikolova 等^[31]以及 Karhu 等^[32]的研究结果一致。梁国华等^[33]发现酸雨降低了土壤呼吸的温度敏感性,并且酸性越强抑制作用越显著。Chen 等^[34]研究表明酸雨对土壤呼吸的温度敏感性没有影响。本研究发现模拟酸雨改变了土壤呼吸对温度的响应,表现为 Q_{10} 值在酸处理下有上升的趋势,说明模拟酸雨增加了土壤呼吸的温度敏感性,这可能是因为 DOC 随酸处理的增加而减少,不同生态系统土壤呼吸季节变异的 Q_{10} 与 DOC 呈负相关^[35]。毛竹林生态系统中毛竹林凋落物分解因酸雨而促进,凋落物有机碳的质量逐渐下降,土壤呼吸的 Q_{10} 值越来越高^[36]。 Q_{10} 值是在整个测定期间进行计算的,分高温阶段或低温不同阶段分析可能有更为具体直观的结果,今后可进一步研究酸雨胁迫下土壤呼吸在不同温度时段的温度敏感性,以及进一步测定土壤呼吸的日变化也是今后研究值得考虑的方面。

3.2 不同模拟酸雨条件下土壤微生物群落多样性的比较及控制因子

土壤呼吸与土壤有机物的转化与循环密切相关,而土壤有机物的转化与循环有赖于微生物活化才能完成。酸化的土壤由于 H⁺ 的毒害作用,从而改变了土壤分解者微生物的种类、结构以及生物活性^[37]。不同 pH 的模拟酸雨均能抑制细菌、放线菌、氮素生理类群的生长,其数量随着酸雨 pH 的降低而不断减少,真菌、纤维素分解菌的数量随酸雨 pH 的降低呈现先升高后下降的趋势^[38]。本研究结果表明,模拟酸雨对毛竹林土壤细菌和真菌群落多样性、丰富度具有显著影响,通过比较指数值的大小可以发现,酸雨能够在一定程度上降低土壤细菌群落多样性,而弱酸能够显著提高土壤细菌群落多样性,同时对酸雨具有抗性或耐性的微生物种群会表现出更高的活性。

有关不同地区土壤微生物多样性的研究表明,土壤 pH 值是影响土壤微生物多样性的重要因子^[39]。Pearson 相关性分析表明,土壤细菌的多样性指数和丰富度指数与 pH 值呈显著或极显著正相关,这与孙岩和全炳武^[40]的研究结果一致,这可能是酸雨胁迫会抑制大多数细菌的生长和繁殖,使土壤细菌的多样性和丰富度下降。同时,我们利用冗余分析可以揭示不同酸雨处理条件下土壤性质对微生物结构的影响,发现其结果与土壤细菌相近,这也说明土壤细菌群落是毛竹林土壤环境中的主导微生物。本研究中,土壤微生物与 pH 值、有效钾、可溶性有机碳和微生物量碳呈显著正相关,同时表现出与土壤呼吸呈正相关关系。这可能是与南方酸性土壤有关,酸雨淋溶增强,土壤的分解与矿化过程较快,土壤元素的迁移较强,尤其是钾的流失量较大,土壤含钾量低,抑制土壤微生物的生长。土壤微生物与土壤碱解氮和有效磷含量呈显著负相关关系,可能原因 pH 值降低,土壤对氮、磷酸根的吸附量降低。酸雨对土壤生态系统的影响是个长期累积的过程,开展酸雨胁迫下毛竹林土壤呼吸的长期定位观测具有较高研究价值,尽管本次研究经历两年的实验,但酸雨处理区域面积偏小,今后可增大实验区面积,以更好地深入研究酸雨胁迫引起的土壤酸化对土壤生态系统过程影响,这些工作开展将有利于我国毛竹林的科学经营及亚热带常绿阔叶林的生态保护。

4 结论

(1) 模拟酸雨对土壤呼吸速率的影响表现为先促进后抑制趋势,土壤呼吸速率呈季节性规律变化,不同模拟酸雨处理改变了土壤呼吸对温度的敏感性。

(2)模拟酸雨改变土壤微生物群落结构及多样性,重度酸雨处理抑制了土壤细菌群落生长,而中度酸雨对土壤真菌多样性和丰富度具有促进作用。

(3)pH 值、速效钾、可溶有机碳等土壤理化性质与土壤微生物群落结构、土壤呼吸密切相关。

参考文献 (References):

- [1] Menz F C, Seip H M. Acid rain in Europe and the United States; an update. *Environmental Science & Policy*, 2004, 7(4): 253-265.
- [2] Zhang X Y, Jiang H, Jin J X, Xu X H, Zhang Q X. Analysis of acid rain patterns in northeastern China using a decision tree method. *Atmospheric Environment*, 2012, 46: 590-596.
- [3] 牟永铭, 朱光良. 基于 GIS 技术的浙江省酸雨区分布研究. *科技通报*, 2005, 21(3): 356-359.
- [4] Ramlall C, Varghese B, Ramdhani S, Pammenter N W, Bhatt A, Berjak P, Sershen. Effects of simulated acid rain on germination, seedling growth and oxidative metabolism of recalcitrant-seeded *Trichilia dregeana* grown in its natural seed bank. *Physiologia Plantarum*, 2015, 153(1): 149-160.
- [5] 许第发, 钟天祥, 徐冬梅, 刘广深. 酸沉降对土壤地球化学过程的影响. *地质地球化学*, 2002, 30(4): 68-74.
- [6] 刘源月, 江洪, 李雅红, 原焕英. 模拟酸雨对杉木幼苗-土壤复合体系土壤呼吸的短期效应. *生态学报*, 2010, 30(8): 2010-2017.
- [7] Liang G H, Liu X Z, Chen X M, Qiu Q Y, Zhang D Q, Chu G W, Liu S X, Liu S Z, Zhou G Y. Response of soil respiration to acid rain in forests of different maturity in southern china. *PLoS One*, 2013, 8(4): e62207.
- [8] Mitchell P J, Simpson A J, Soong R, Simpson M J. Shifts in microbial community and water-extractable organic matter composition with biochar amendment in a temperate forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 81: 244-254.
- [9] Davidson E A, Savage K, Verchot L V, Navarro R. Minimizing artifacts and biases in chamber-based measurements of soil respiration. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2002, 113(1/4): 21-37.
- [10] Janssens I A, Lankreijer H, Matteucci G, Kowalski A S, Buchmann N, Epron D, Pilegaard K, Kutsch W, Longdoz B, Grünwald T, Montagnani L, Dore S, Rebmann C, Moors E J, Grelle A, Rannik Ü, Morgenstern K, Oltchev S, Clement R, Guðmundsson J, Minerbi S, Berbigier P, Ibrom A, Moncrieff J, Aubinet M, Bernhofer C, Jensen N O, Vesala T, Granier A, Schulze E D, Lindroth A, Dolman A J, Jarvis P G, Ceulemans R, Valentini R. Productivity overshadows temperature in determining soil and ecosystem respiration across European forests. *Global Change Biology*, 2001, 7(3): 269-278.
- [11] Chen S T, Shen X S, Hu Z H, Chen H S, Shi Y H, Liu Y. Effects of simulated acid rain on soil CO₂ emission in a secondary forest in subtropical China. *Geoderma*, 2012, 189-190: 65-71.
- [12] 陈书涛, 孙鹭, 桑琳, 胡正华. 模拟酸雨对次生林土壤呼吸及异养呼吸的影响. *环境科学*, 2017, 38(3): 1235-1244.
- [13] Li P H, Zhou G M, Du H Q, Lu D S, Mo L F, Xu X J, Shi Y J, Zhou Y F. Current and potential carbon stocks in Moso bamboo forests in China. *Journal of Environmental Management*, 2015, 156: 89-96.
- [14] Zhou G M, Xu X J, Du H Q, Ge H L, Shi Y J, Zhou Y F. Estimating aboveground carbon of Moso bamboo forests using the k nearest neighbors technique and satellite imagery. *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing*, 2011, 77(11): 1123-1131.
- [15] Du H Q, Zhou G M, Ge H L, Fan W Y, Xu X J, Fan W L, Shi Y J. Satellite-based carbon stock estimation for bamboo forest with a non-linear partial least square regression technique. *International Journal of Remote Sensing*, 2012, 33(6): 1917-1933.
- [16] 白尚斌, 周国模, 王懿祥, 梁倩倩, 陈娟, 程艳艳, 沈蕊. 天目山保护区森林群落植物多样性对毛竹入侵的响应及动态变化. *生物多样性*, 2013, 21(3): 288-295.
- [17] 李雅红, 江洪, 原焕英, 刘源月, 周国模, 余树全. 西天目山毛竹林土壤呼吸特征及其影响因子. *生态学报*, 2010, 30(17): 4590-4597.
- [18] 杨文佳, 李永夫, 姜培坤, 周国模, 刘娟. 亚热带毛竹人工林土壤呼吸组分动态变化及其影响因素. *应用生态学报*, 2015, 26(10): 2937-2945.
- [19] 武志华, 夏冬双, 王雪寒, 马强, 唐凯, 刘惠荣. 利用 PCR-DGGE 技术分析内蒙古西部地区土壤细菌的多样性. *生态学报*, 2019, 39(7): 2545-2557.
- [20] Davidson E A, Janssens I A, Luo Y Q. On the variability of respiration in terrestrial ecosystems: moving beyond Q₁₀. *Global Change Biology*, 2006, 12(2): 154-164.
- [21] 赵天心, 毛新伟, 程敏, 陈俊辉, 秦华, 李永春, 梁辰飞, 徐秋芳. 毛竹种植对土壤细菌和真菌群落结构及多样性的影响. *应用生态学报*, 2017, 28(11): 3740-3750.
- [22] Reth S, Reichstein M, Falge E. The effect of soil water content, soil temperature, soil pH-value and the root mass on soil CO₂ efflux-A modified model. *Plant and Soil*, 2005, 268(1/2): 21-33.
- [23] Fangueiro D, Surgu S, Coutinho J, Vasconcelos E. Impact of cattle slurry acidification on carbon and nitrogen dynamics during storage and after soil

- incorporation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2013, 176(4): 540-550.
- [24] Walna B, Siepak J, Drzymala S. Soil degradation in the Wielkopolski National Park (Poland) as an effect of acid rain simulation. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2001, 130(1): 1727-1732.
- [25] Araújo A S F, Monteiro R T R. Microbial biomass and activity in a Brazilian soil amended with untreated and composted textile sludge. *Chemosphere*, 2006, 64(6): 1043-1046.
- [26] 王国兵, 郝岩松, 王兵, 阮宏华. 土地利用方式的改变对土壤呼吸及土壤微生物生物量的影响. *北京林业大学学报*, 2006, 28(S2): 74-79.
- [27] Lim S M, Cha S S, Shim J K. Effects of simulated acid rain on microbial activities and litter decomposition. *Journal of Ecology and Environment*, 2011, 34(4): 401-410.
- [28] Lu S B, Chen C R, Zhou X Q, Xu Z H, Bacon G, Rui Y C, Guo X M. Responses of soil dissolved organic matter to long-term plantations of three coniferous tree species. *Geoderma*, 2012, 170: 136-143.
- [29] Huang J S, Hu B, Qi K B, Chen W J, Pang X Y, Bao W K, Tian G L. Effects of phosphorus addition on soil microbial biomass and community composition in a subalpine spruce plantation. *European Journal of Soil Biology*, 2016, 72: 35-41.
- [30] 张慧玲, 吴建平, 熊鑫, 褚国伟, 周国逸, 张德强. 南亚热带森林土壤碳库稳定性与碳库管理指数对模拟酸雨的响应. *生态学报*, 2018, 38(2): 657-667.
- [31] Nikolova P S, Raspe S, Andersen C P, Mainiero R, Blaschke H, Matyssek R, Häberle K H. Effects of the extreme drought in 2003 on soil respiration in a mixed forest. *European Journal of Forest Research*, 2009, 128(2): 87-98.
- [32] Karhu K, Fritze H, Tuomi M, Vanhala P, Spetz P, Kitunen V, Liski J. Temperature sensitivity of organic matter decomposition in two boreal forest soil profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(4): 72-82.
- [33] 梁国华, 吴建平, 熊鑫, 吴小映, 褚国伟, 周国逸, 曾任森, 张德强. 模拟酸雨对鼎湖山季风常绿阔叶林土壤呼吸的初期影响. *广西植物*, 2016, 36(2): 145-153.
- [34] Chen S T, Zhang X, Liu Y F, Hu Z H, Shen X S, Ren J Q. Simulated acid rain changed the proportion of heterotrophic respiration in soil respiration in a subtropical secondary forest. *Applied Soil Ecology*, 2015, 86: 148-157.
- [35] Zheng Z M, Yu G R, Fu Y L, Wang Y S, Sun X M, Wang Y H. Temperature sensitivity of soil respiration is affected by prevailing climatic conditions and soil organic carbon content: a trans-China based case study. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(7): 1531-1540.
- [36] Jia B R, Zhou G S, Wang F Y, Wang Y H, Weng E S. Effects of grazing on soil respiration of *Leymus chinensis* steppe. *Climatic Change*, 2007, 82(1): 211-223.
- [37] Xu H Q, Zhang J E, Qu Y, Lin L, Quan G M, Zhao B L, Yu J Y. Effects of simulated acid rain on microbial characteristics in a lateritic red soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(22): 18260-18266.
- [38] Chen D M, Wang Y, Lan Z C, Li J J, Xing W, Hu S J, Bai Y F. Biotic community shifts explain the contrasting responses of microbial and root respiration to experimental soil acidification. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 90: 139-147.
- [39] Chu H Y, Fierer N, Lauber C L, Caporaso J G, Knight R, Grogan P. Soil bacterial diversity in the Arctic is not fundamentally different from that found in other biomes. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(11): 2998-3006.
- [40] 孙岩, 全炳武. 模拟酸雨对玉米幼苗生理与根际微生物的影响. *延边大学农学学报*, 2009, 31(3): 165-171.