

DOI: 10.5846/stxb201907151487

冯慧芳, 林婉奇, 薛立. 氮磷添加和栽植密度对大叶相思林土壤微生物群落功能多样性的影响. 生态学报, 2021, 41(6): 2305-2314.

Feng H F, Lin W Q, Xue L. Interactive effects of nitrogen and phosphorus additions and different stand densities on soil microbial functional diversity of *Acacia auriculiformis* stands. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(6): 2305-2314.

氮磷添加和栽植密度对大叶相思林土壤微生物群落功能多样性的影响

冯慧芳^{1,2}, 林婉奇¹, 薛立^{1,*}

1 华南农业大学林学与风景园林学院, 广州 510642

2 广东省森林资源保育中心, 广州 510173

摘要: 土壤微生物群落是土壤质量潜在的生态指标, 在维持生态系统功能和服务中起着关键的作用。采用 Biolog-ECO 微平板法, 探讨氮磷添加与不同栽植密度交互对大叶相思林(*Acacia auriculiformis*) 土壤微生物功能多样性的影响, 以便为建立合理的林分密度和氮磷施肥模式, 提高土壤质量提供理论参考。以大叶相思林为研究对象, 选择氯化铵(NH_4Cl) 作为氮肥模拟大气氮沉降, 用二水合磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 进行磷添加。氮磷处理设置 4 个水平, 即 CK、施 N、施 P 和施 N+P。种植密度设置 4 个水平, 即 1667、2500、4444、10000 株/hm² (分别以低密度、中密度、较高密度、高密度表示)。研究结果表明, 施 P 显著提高了 4 个密度大叶相思林土壤微生物的 AWCD 值、碳源利用丰富度指数、McIntosh 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数, 而施 N 和 N+P 则相反。随着林分密度的减小, 各处理的土壤微生物 AWCD 值趋于减少。通常低密度林分的土壤微生物的丰富度指数、Shannon-Wiener 指数、McIntosh 指数和 Simpson 指数较小。

关键词: BIOLOG; 氮添加; 磷添加; 种植密度; 大叶相思; 土壤微生物; 功能多样性

Interactive effects of nitrogen and phosphorus additions and different stand densities on soil microbial functional diversity of *Acacia auriculiformis* stands

FENG Huifang^{1,2}, LIN Wanqi¹, XUE Li^{1,*}

1 South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

2 Forest Resources Conservation Center of Guangdong Province, Guangzhou 510173, China

Abstract: Climate change affects the physiological activities of soil microbes, which causes changes of soil microbial community structure and functional diversity and cascades the effects on biogeochemical cycling and climate-ecosystem feedbacks. Among them, nitrogen (N) and phosphorus (P) are considered as the limiting factors that influences the plant biodiversity and primary productivity in forest ecosystems. The external N addition or atmospheric N deposition has been found to affect the aboveground biology processes and the underground biochemistry of soil, both directly and indirectly. Chronic elevated N input has been shown to lead to many adverse impacts, including soil acidification, nutrients imbalance, and the increased greenhouse gas emissions. Forest soils of southern China are P-limited, because they are highly weathered and leached, and little P is released even from the weathering of primary P-bearing minerals. As a result, P fertilization is widely used in the subtropical forests of southern China. As an important component in regulating belowground ecological processes, the soil microbes are primary mediators of organic matter decomposition and nutrient cycling, and thus play a key role in maintaining function and sustainability of terrestrial ecosystems. Additionally, changes in soil microbial function and

基金项目: 中央财政林业科技推广示范项目 (2015-GDTK-07)

收稿日期: 2019-07-15; 网络出版日期: 2021-01-14

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: forxue@scau.edu.cn

community composition may trigger a series of responses, such as impacting litter and organic matter decomposition rates, humus formation nutrient transformation and cycling, and then alter the interaction between soil microbes and plant communities. In this study, Biolog-ECO microplate method was used to investigate the interactive effects of nitrogen and phosphorus additions and different stand densities on soil microbial functional diversity of *Acacia auriculiformis* stands, which can provide a basis for establishing reasonable stand density, fertilization method, and improve soil quality. NH_4Cl and $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ were selected to simulate atmospheric nitrogen and phosphorus additions with 4 treatments (CK, N, P and N+P) and stand density was set at 4 levels (1667, 2500, 4444, and 10000 seedlings/ hm^2). The results showed that P treatment promoted the average well color development (AWCD) values, richness index, McIntosh index, Shannon index, and Simpson index of soil microbes in the four density stands, while the N and N+P treatments were opposite. With the decrease of forest density, the AWCD values of soil microbes in all treatments decreased. Generally, soil microbial richness index, Shannon-Wiener index, McIntosh index and Simpson index were small in the low density stands.

Key Words: BIOLOG; N addition; P addition; stand density; *Acacia auriculiformis*; soil microbe; functional diversity

土壤微生物作为土壤能量和养分循环的“源”和“库”,在维持生态系统功能和服务中起着关键的作用^[1]。由于微生物的生成时间短,体积小,对环境变化非常敏感,常被作为评价土壤质量变化的重要指标^[2]。因为土壤微生物直接参与了生态系统的物质循环和能量转换,研究其功能多样性对于明确不同环境中微生物群落的作用具有重要意义^[3]。土壤微生物群落功能多样性可能受到环境(非生物和生物)因素和人为措施的直接和间接影响^[4],其群落组成和功能的变化可能引发一系列反应,如影响养分的转化和循环、凋落物和有机质的分解速率、腐殖质的形成等^[5]。BIOLOG 分析技术通过微生物对不同碳源的利用特点来直观反映土壤微生物的功能多样性,近二十几年来取得了长足进步而被广泛应用^[6]。

由于生产和生活中大量化石燃料的燃烧和化学肥料的过度使用,大气氮(N)沉降增加已成为一个日趋严重的全球化现象^[7]。慢性高氮输入会导致许多不利影响,包括增加温室气体排放^[8]、养分不平衡^[9]以及土壤酸化等^[10-11]。在自然状态下,很多亚热带林的土壤都表现为氮丰富及磷(P)限制。在土壤形成过程中,有些树种可以通过生物固氮从而丰富土壤中的氮,而磷随着雨水淋洗和被铁铝固定而不断减少^[12],且 N 沉降可能会导致土壤养分元素不平衡,进一步加剧森林生态系统中的 P 限制^[13]。因此,亚热带森林常常缺 P^[14]。外源性氮磷的输入会引起土壤微生物群落结构和功能多样性的改变,并对生物地球化学循环和气候—生态系统反馈产生连锁效应^[15]。林分密度通过影响光照可以对植物的生长和土壤微环境产生直接或间接影响,如造成树木根系分布、代谢和吸收能力的差异,从而对土壤微生物的代谢和功能多样性产生影响^[16]。

目前,国内学者应用 BIOLOG 技术对土壤微生物群落功能多样性开展了较多研究,主要集中在不同施肥方式^[17-19]、不同生态系统^[20-22]、不同土壤因素和外界环境^[23-25]、不同土地利用方式^[26-28]条件下土壤微生物功能多样性等方面。近年来林分密度影响土壤特性的研究受到重视。例如,Lie 等^[29]、冯宜明等^[30]、孙千惠等^[31]、赵伟文等^[32]和王媚臻等^[33]分别报道了林分密度对山毛豆(*Tephrosia candida*)幼林、云杉(*Picea asperata*)幼林、马尾松(*Pinus massoniana*)林、华北落叶松(*Larix gmelinii*)林、油松(*Pinus tabulaeformis*)林和柏木(*Cupressus funebris*)林土壤养分的影响,林婉奇等^[34]研究了氮磷添加与不同栽植密度交互对樟树(*Cinnamomum camphora*)盆栽幼苗土壤养分的短期影响,尚未见有关氮磷添加与林分密度交互作用对土壤微生物群落功能多样性影响的报道。

大叶相思(*Acacia auriculiformis*)是含羞草科金合欢属速生固 N 树种,是华南造林绿化、改良土壤、水土保持和滨海防风固沙的主要树种之一。国内外学者对于大叶相思的种子萌发^[35-36]、生长^[37]、土壤^[38-39]、生物量^[40-41]和凋落物分解^[42]等方面进行过报道,而有关氮磷添加和密度交互作用对大叶相思人工林土壤微生物群落功能多样性的影响尚未见到报道。本研究通过野外模拟实验,以大叶相思人工林为研究对象,采用 BIOLOG 技术分析氮磷添加和不同林分密度交互对大叶相思林土壤微生物功能多样性的影响,可以为建立合

理的林分密度和土壤养分管理提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验设在惠州市惠城区小金口(114°17'42"—114°32'16"E, 22°56'57"—23°16'03"N), 属南亚热带季风气候。年平均气温在 19.5—22.1 ℃, 年平均降雨量 1690—2380 mm, 多集中在 4—9 月份, 占年降雨量的 80%—85%。夏季多吹东南风, 冬季多吹东北风, 台风发生在 6—10 月。土壤为花岗岩发育的赤红壤。

1.2 实验设计

2003 年 4 月在惠州小金口的火烧马尾松林迹地, 割除林地上的芒草 (*Miscanthus sinensis*)、桃金娘 (*Rhodomyrtus tomentosa*) 等杂草和藤类后, 块状开穴 (规格 50 cm×50 cm×40 cm), 按 1667 (低密度)、2500 (中密度)、4444 (较高密度)、10000 (高密度) 株/hm² 栽植苗高约 1 m 的当年生大叶相思实生苗各 2 hm²。2013 年 4 月, 在 4 种密度的大叶相思人工林各建立 1 个面积为 0.4 hm² (50 m×80 m) 的样地用于不同施肥方案试验。林分在施肥试验前, 没有进行施肥除草等经营活动。在 4 种密度的样地内分别设 5 个 5 m×5 m 的小样方 (即 5 个重复)。每个小样方内设置 4 种处理 (对照 (CK)、施 N、施 P、施 N+P), 各处理之间设置至少 3 m 的缓冲带^[43-44]。这些地块彼此相距 30 m 以内, 确保了各处理的环境条件, 如光、温度、湿度和降水一致。

根据样地的氮沉降水平背景值以及参考同类研究方法^[45-46], 大气氮沉降中近 3/4 为铵态氮, 故本试验选择氯化铵 (NH₄Cl) 模拟大气氮沉降, 并且以二水合磷酸二氢钠 (NaH₂PO₄·2H₂O) 模拟大气磷沉降。样方内 N、P 和 N+P 施肥量分别为 NH₄Cl 10 g m⁻² a⁻¹、NaH₂PO₄·2H₂O 5 g m⁻² a⁻¹、NH₄Cl 10 g m⁻² a⁻¹ + NaH₂PO₄·2H₂O 5 g m⁻² a⁻¹。2013 年 4 月开始每隔 3 个月对小样方进行地表喷洒处理, 到 2015 年 3 月完成试验。具体操作如下: 将各处理所需的肥料溶解至 1 L 的水, 用喷雾器均匀喷洒在土壤表面, CK 则喷洒相同体积的水。2013 年试验地 4 种密度林分的基本特征详见表 1。

表 1 大叶相思人工林基本情况

Table 1 General condition of *Acacia auriculiformis* plots

林分 Stands	密度 Density /(株/hm ²)	林龄 Stand age/a	胸径 Diameter at breast height/cm	树高 Tree height /m	郁闭度 Depression density	林冠开度 Canopy openness /%	坡向 Aspect	坡度 Slope
低密度 Low density	1667	10	11.4	11.2	0.65	29.53	SW43°	28°
中密度 Medium density	2500	10	10.6	10.3	0.70	25.84	SW44°	31°
较高密度 Relatively high density	4444	10	9.8	10.1	0.75	21.63	SW44°	30°
高密度 High density	10000	10	8.6	11.1	0.80	12.53	SW42°	27°

主要林下植被: 玉叶金花 *Mussaenda pubescens*、桃金娘 *Rhodomyrtus tomentosa*、海金沙 *Lygodium japonicum*、芒草 *Miscanthus sinensis*、芒萁 *Dicranopteris pedata*、梅叶冬青 *Ilex asprella*、了哥王 *Wikstroemia indica*、米碎花 *Eurya chinensis*、野牡丹 *Melastoma caundidum*、黑面神 *Breynia fruticosa*; 林冠开度采用鱼眼相机拍照, GLA (V2.0) 软件计算得出

1.3 土壤样品采集

2015 年 4 月, 试验结束时, 在各密度林分的 5 个样方内, 用直径 2 cm、深 10 cm 的土钻分别采集 CK、N、P 和 N+P 处理的土壤样品约 1 kg, 取土深度为 0—10 cm。剔除植物残根和大于 2 mm 的石子等杂物, 装入密封塑料袋, 标记挂签, 带回实验室用于土壤微生物多样性的测定。

1.4 土壤微生物群落功能多样性的测定

采用 Biolog-ECO 微平板法: 室温下称取 10 g 的新鲜土样放入 250 mL 的三角瓶中, 加入 90 mL 已灭菌 0.85% NaCl 溶液, 摇床振荡 30 min (200 r/min)。将稀释为 10⁻³ 土壤稀释液经离心去除残留的土壤后, 取上清

液用于接种。在 Biolog-ECO 微孔板的每个孔中,接种 150 μ L 的悬浮液,碳源利用率是通过减少四唑染料使接种液从无色到紫色来指示。微孔板在 25 $^{\circ}$ C 下连续培养 144 h,期间每隔 12 h 用 ELISA 反应微平板读数器在 590 nm 处读数,记录吸光值^[6]。

1.5 数据处理

Biolog-ECO 平板测定的每孔颜色平均变化率(Average well color development, AWCD) 值,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。我们选择培养后的第 96 小时的 AWCD 值分析,因为此时的 AWCD 值比较稳定。

AWCD 的计算方法如下^[6]:

$$AWCD = \sum (C_i - R) / 31$$

式中, C_i 为各反应孔在 590 nm 下的光密度值; R 为生态板对照孔(水)的光密度值; $C_i - R$ 小于 0 的孔均在计算中记为 0。

碳源利用丰富度指数(S)、Shannon 指数(H')、均匀度指数(E)、Simpson 指数(D_s)、McIntosh 指数(U)是用来表征微生物多样性的常用指标。

土壤多样性指数计算如下:

碳源利用丰富度指数: $S = \text{被利用碳源的总孔目}$

Shannon 指数: $H' = -\sum P_i \ln P_i$

均匀度指数: $E = H' / \ln S$

McIntosh 指数: $U = \sqrt{\sum n_i^2}$

Simpson 指数: $D_s = 1 / (P_i)^2$

式中, $P_i = (C_i - R) / \sum (C_i - R)$, 表示反应孔与对照孔光密度值之差和整块板总差的比值, $n_i = C_i - R$ 。

用 Excel 2010 对土壤数据作图,用 SAS 8.2 对各处理的土壤微生物多样性采用 Duncans 法进行多重比较,统计显著水平均为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 外源性 N 和 P 对森林土壤微生物群落功能多样性的影响

2.1.1 土壤微生物培养 Biolog-ECO 板 AWCD 值的变化

培养开始后,每隔 12 h 测定各处理的 AWCD 值,绘制其随时间变化如图 1。在各密度林分中,各处理的 AWCD 值在培养的 48—96 h 之间保持快速增加,96 h 之后趋于稳定。说明 48 h 之后碳源被土壤微生物迅速利用。各处理的 AWCD 值增长速率各不相同,说明各处理间微生物对碳源的利用能力有较大差异,微生物代谢活性方面有很大差异。各处理 AWCD 值的顺序为施 P > CK > 施 N + P > 施 N。在各密度林分中,施 P 提高了大叶相思林的土壤微生物活性,施 N 和 N + P 降低了其土壤微生物活性,且施 N 的抑制作用大于施 N + P。土壤微生物的 AWCD 值随着林分密度的增加而趋于增加。

2.1.2 不同处理对土壤微生物群落功能多样性指数的影响

大叶相思各密度林分土壤微生物在 Biolog-ECO 板中培养 96 h 时的微生物碳源利用丰富度见图 2。施 N 降低了 4 个密度林分的土壤微生物的丰富度,施 P 处理显著提高了 4 个密度林分的土壤微生物的丰富度($P < 0.05$),施 N + P 显著降低了低密度、中密度和高密度林分的土壤微生物的丰富度($P < 0.05$),对较高密度林分影响不显著。随着种植密度的增大,CK、N + P 处理的微生物丰富度指数上升后下降,N 处理的丰富度指数呈上升趋势,P 处理的丰富度指数先上升后趋于稳定。通常 4 种处理的低密度林分的微生物丰富度小于其他密度林分。

施 N 显著降低了较高密度和高密度林分土壤微生物的 Shannon 指数($P < 0.05$),对低密度和中密度林分

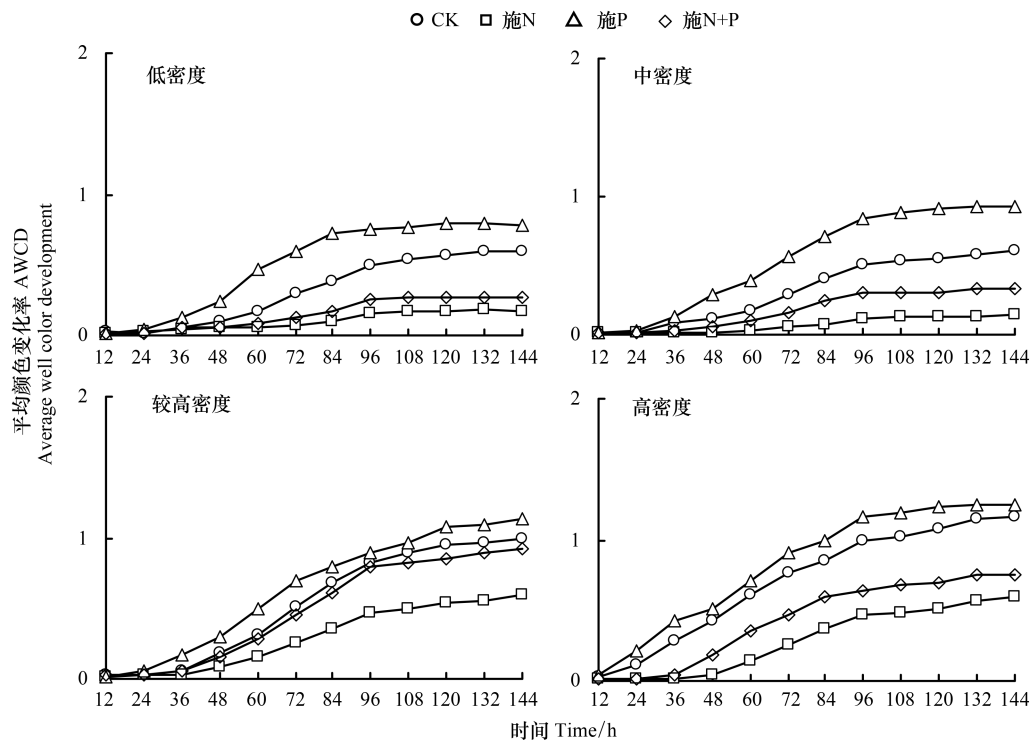
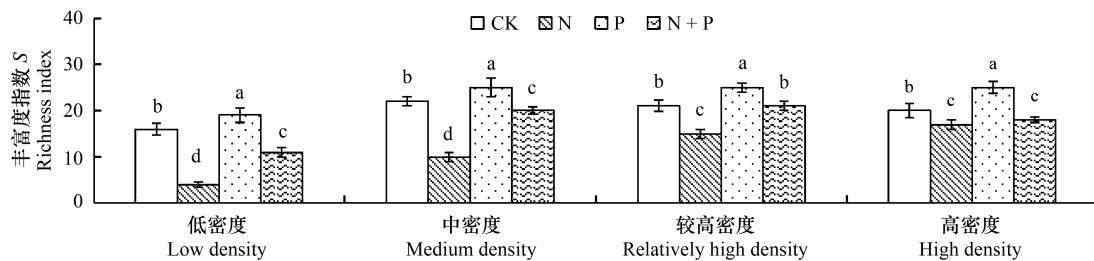


图1 大叶相思林土壤的 AWCD 值

Fig.1 Soil AWCD values of the *Acacia auriculiformis* stands图2 大叶相思林的土壤微生物丰富度指数 S (平均值 $\pm$ 标准误差)Fig.2 Soil microbial richness index of the *Acacia auriculiformis* stands (Mean $\pm$ SE)

不同小写字母表示相同种植密度下的不同氮磷添加处理间差异显著, $P < 0.05$

的影响不显著。除了较高密度林分,施 P 显著提高了其他 3 个密度林分土壤微生物的 Shannon 指数 ($P < 0.05$),施 N+P 处理显著提高了低密度林分土壤微生物的 Shannon 性指数 ($P < 0.05$),对其他密度林分的影响不显著(图 3)。通常 4 种处理的中密度和较高密度林分的土壤微生物的 Shannon 指数大于其他密度林分。

施 N、P 和 N+P 对中和较高密度林分的土壤微生物均匀度指数影响不显著。施 N 显著提高了低和高密度林分的土壤微生物均匀度指数,施 P 显著降低了低和高密度林分的均匀度指数,而施 N+P 显著降低了低密度林分 and 显著提高了高密度林分的土壤微生物均匀度指数 ($P < 0.05$) (图 4)。

施 N 和 N+P 显著降低了 4 个密度林分的土壤微生物 McIntosh 指数,而施 P 处理显著提高了 4 个密度林分的土壤微生物 McIntosh 指数 ($P < 0.05$) (图 5)。通常 4 种处理的中密度和较高密度林分的土壤微生物的 McIntosh 指数大于其他密度林分。

施 N 显著降低了 4 个密度林分的土壤微生物 Simpson 指数,施 P 显著提高了 4 个密度林分的土壤微生物

Simpson 指数 ($P < 0.05$), 施 N+P 显著提高了低密度林分的土壤微生物 Simpson 指数 ($P < 0.05$), 对其他密度的林分无显著影响 (图 6)。低密度林分的各处理土壤微生物的 Simpson 指数通常小于其他密度林分。

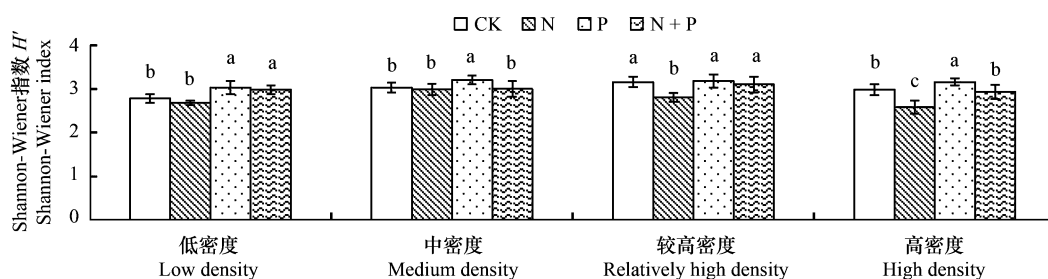


图 3 大叶相思林的土壤微生物 Shannon-Wiener 多样性指数 H' (平均值±标准误差)

Fig.3 Soil Shannon-Wiener index of the *Acacia auriculiformis* stands (mean ± SE)

不同小写字母表示相同种植密度下的不同氮磷添加处理间差异显著, $P < 0.05$

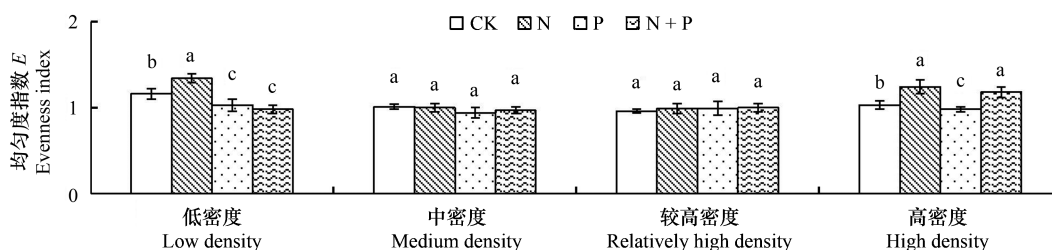


图 4 大叶相思林的土壤微生物均匀指数 E (平均值±标准误差)

Fig.4 Evenness index of soil microorganisms in the *Acacia auriculiformis* stands (mean ± SE)

不同小写字母表示相同种植密度下的不同氮磷添加处理间差异显著, $P < 0.05$

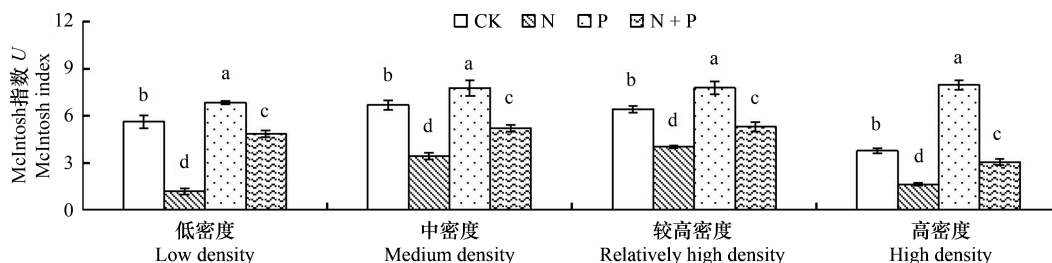


图 5 大叶相思林的土壤微生物 McIntosh 指数 (平均值±标准误差)

Fig.5 McIntosh index of soil microorganisms in the *Acacia auriculiformis* stands (mean ± SE)

不同小写字母表示相同种植密度下的不同氮磷添加处理间差异显著, $P < 0.05$

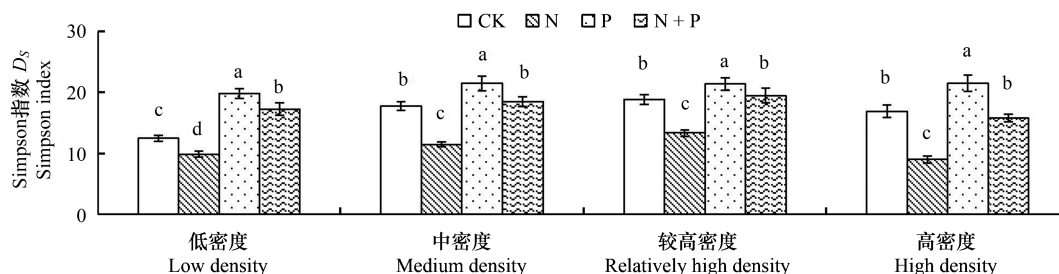


图 6 大叶相思林的土壤微生物辛普森指数 (平均值±标准误差)

Fig.6 Simpson index of soil microorganisms in the *Acacia auriculiformis* stands (mean ± SE)

不同小写字母表示相同种植密度下的不同氮磷添加处理间差异显著, $P < 0.05$

2.2 氮磷添加与密度对大叶相思林土壤微生物功能多样性的交互作用

由表 2 可知,氮磷添加和密度处理对大叶相思土壤微生物的 AWCD 值、碳源利用丰富度、均匀度指数、McIntosh 指数、辛普森指数产生显著的交互作用($P<0.05$),对香农多样性指数没有显著影响。

表 2 氮磷添加和密度对大叶相思林土壤微生物功能多样性的交互作用

Table 2 Interaction between NP treatments and density of soil microbial functional diversity of *Acacia auriculiformis* stands

指标 Parameter	NP 处理 NP treatments		密度 Density		密度与处理交互作用 Interaction between density and NP treatments	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
颜色平均变化率 AWCD Average well color development	675.301	0.000	535.729	0.000	14.189	0.000
碳源利用丰富度 <i>S</i> Richness index	77.387	0.000	43.151	0.000	3.582	0.004
Shannon-Wiener 多样性指数 <i>H'</i> Shannon-Wiener index	5.868	0.003	2.388	0.087	0.560	0.819
均匀度指数 <i>E</i> Evenness index	5.937	0.002	8.205	0.000	2.719	0.018
McIntosh 指数 <i>U</i> McIntosh Index	247.262	0.000	42.981	0.000	9.232	0.000
Simpson 指数 D_s Simpson index	97.013	0.000	12.473	0.000	2.423	0.032

3 讨论

3.1 氮磷添加和种植密度对土壤微生物群落碳源利用动力学特征的影响

N 是土壤中最常见的限制性营养元素,主要通过氮的固定进入生态系统。增加氮沉降可能会改变土壤微生物群落的组成及其对生态系统结构和功能的反馈^[47]。本研究中,各处理土壤 AWCD 值的大小顺序为施 P>CK>施 N+P>施 N。在各密度林分中,施 P 提高了大叶相思林的土壤微生物的代谢活性,施 N 和 N+P 抑制了其土壤微生物的代谢活性,且施 N 的抑制作用大于施 N+P。这可能是因为大叶相思林土壤缺 P 限制了其土壤微生物的繁殖和生长,施 P 通过缓解土壤低磷胁迫从而促进土壤微生物活性。大叶相思有根瘤菌固氮,因而叶片的 N 含量高。大量的凋落叶归还土壤,导致林地的 N 含量高。施氮会加剧土壤氮磷不平衡,导致低磷胁迫加剧,进一步降低土壤微生物代谢活性^[48]。齐莎等^[49]和刘蔚秋等^[50]的研究亦发现,施 N 降低了土壤微生物的 AWCD 值,改变了土壤微生物的群落结构组成和底物利用模式,抑制土壤微生物的代谢活性和多样性,使得土壤微生物群落结构变得简单化^[51]。吴松芹等^[21]和隋心等^[52]的研究却发现,湿地土壤微生物的 AWCD 值随着土壤氮含量的增加而逐渐上升,且均高于对照处理。这说明在氮含量较低的土壤中,会产生氮限制,施氮促进了植物的生长,地上较高的生物量会返回土壤,为土壤微生物群落提供充足的碳源,从而促进了微生物的碳代谢活性^[53]。

不同密度林分下的光照、林下植被、温度和湿度等环境因子也会影响土壤微生物群落多样性^[54]。本研究土壤的 AWCD 值随着林分密度的增大而增加,这可能与大叶相思林枝叶稀疏有关。低密度林分林内的太阳辐射较强,空气和土壤温度的上升和波动加快,土壤水分因为蒸发速率加快而减少,不适于微生物生长而降低微生物的功能多样性^[55]。大叶相思有根瘤菌固氮,叶片的养分含量高。随着林分密度的提高,林分凋落物量增加,土壤养分含量提高,促使了单位面积的根系密集度高且覆盖土壤范围大,而根系分泌物中的糖类和氨基酸及维生素等可以为植物根际微生物提供充足的养分,从而增加了根际微生物数量和活性^[56]。

3.2 外源性氮磷和种植密度对土壤微生物功能多样性指数的影响

碳源利用丰富度指数(*S*)、Shannon 指数(*H'*)、均匀度指数(*E*)、Simpson 指数(D_s)、McIntosh 指数(*U*)是用来表征微生物多样性的常用指标。本研究中,连续 2 年施 N 和施 N+P 显著降低了 4 个密度大叶相思林分

的土壤微生物碳源利用丰富度指数、McIntosh 指数、Shannon 指数、Simpson 指数,可能与大叶相思林地的土壤 N 含量高有关。袁颖红等^[17]连续 6 年模拟氮沉降对杉木人工林土壤微生物功能多样性影响的研究发现,低氮处理有利于提高微生物群落的 Shannon 指数与 McIntosh 指数,高氮处理则表现出抑制作用。说明施肥时间和施肥量对土壤微生物多样性指数具有重要影响,氮沉降适量时能提高土壤微生物的多样性指数,而长期高氮沉降则会抑制土壤微生物的多样性^[57]。Sarithchandra 等^[58]的研究却发现,N 添加下后新西兰汉密尔顿草原土壤微生物的 Shannon 指数高于 CK 处理。这可能是因为施肥条件和土壤肥力不同,导致土壤养分指标发生变化,进而影响土壤微生物的功能多样性。

本研究中,施 P 显著提高了大叶相思 4 个密度林分的土壤微生物碳源利用丰富度指数、Shannon 指数、McIntosh 指数、Simpson 指数。由于大叶相思试验林位于亚热带红壤,林地普遍缺磷^[14],施 P 肥能够快速有效地补充土壤中速效磷的含量,有利于大叶相思人工林生产力的恢复和提高。施 P 还能通过改变土壤的理化性质,影响地上植被的生长能力、竞争能力和存活能力,进而间接影响土壤微生物的功能多样性^[59]。字洪标等^[22]的研究发现,川西北高寒草甸土壤 0—10 cm 土层微生物的 McIntosh 指数和 Shannon 指数随着 P 肥的增加而显著降低。这可能与试验地的气候、生态系统类型和土壤特性有关。青藏高原海拔高,树木受生长季低温限制,土壤的磷矿化作用较低,速效 P 含量低,在 P 限制的条件下,过量施 P 反而会抑制土壤微生物的代谢活性^[60]。

本研究中,低密度林分的土壤微生物的碳源利用丰富度指数、Shannon-Wiener 指数、McIntosh 指数和 Simpson 指数通常小于其他密度林分。这可能是因为低林分密度下,林下植被获取光照和养分等资源多,灌木草本层的快速生长会吸收土壤的养分元素,同时阻碍凋落物落到地面,延缓其分解,导致土壤的肥力下降,从而影响了土壤微生物的代谢和功能活性^[61]。在中密度和较高密度林分中,各处理的均匀度指数没有显著差异。这可能是因为施肥导致土壤中原数量庞大的微生物类群减少,同时可能促进新的微生物类群产生,从而保持土壤微生物的均匀度指数相对稳定^[62]。

3.3 氮磷添加与密度对大叶相思微生物功能多样性的交互作用

氮磷添加、密度及氮磷添加和密度的交互作用均对大叶相思林土壤的 AWCD 值、碳源利用丰富度指数、均匀度指数、McIntosh 指数和 Simpson 指数产生显著的作用。氮添加对大叶相思林土壤微生物多样性指数具有显著负效应,磷添加对土壤微生物多样性指数具有显著的正效应。在一定林分密度范围内,密度对微生物多样性指数具有显著正效应,但是通常氮添加的负效应大于密度处理的正效应。大叶相思林土壤富含氮而缺磷,氮磷添加缓解了 P 限制,从而提高土壤微生物的代谢活性,而过量的氮添加产生土壤酸化以及铝毒效应,反而抑制了土壤微生物群落的代谢活性。一定林分密度范围内,土壤单位面积的根系密集,根系分泌糖类、氨基酸和维生素等养分多,养分的增加刺激了土壤微生物多样性。由上可见,N 添加和密度的交互作用引起土壤微生物多样性的下降,P 添加和密度的交互作用引起土壤微生物多样性的上升。

全球性的大气氮沉降日趋严重,影响了土壤微生物的分解能力,进而导致土壤养分有效性的变化。林分密度是人工林群落的重要结构特征,合理的林分密度可以提高人工林的生产力,改善生态系统的服务功能和健康状况。加强氮磷添加和密度处理对土壤微生物功能多样性的交互作用的研究,合理设置土壤微生物多样性施肥水平和林分密度,有助于弄清土壤微生物多样性对全球变化的响应机制。目前,仅利用 BIOLOG 技术从碳源代谢的角度来探讨微生物功能多样性还存在一些局限性,今后还需借助于高通量测序、PLFA 等技术,同时结合合理的统计分析方法,从不同层面对土壤微生物功能多样性开展研究^[63]。

参考文献 (References):

- [1] Ling N, Chen D M, Guo H, Wei J X, Bai Y F, Shen Q R, Hu S J. Differential responses of soil bacterial communities to long-term N and P inputs in a semi-arid steppe. *Geoderma*, 2017, 292: 25-33.
- [2] Huang Z Q, Xu Z H, Chen C R. Effect of mulching on labile soil organic matter pools, microbial community functional diversity and nitrogen transformations in two hardwood plantations of subtropical Australia. *Applied Soil Ecology*, 2008, 40(2): 229-239.

- [3] Preston-Mafham J, Boddy L, Randerson P F. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles- a critique. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, 42(1): 1-14.
- [4] Tamilselvi S M, Chinnadurai C, Ilamurugu K, Arulmozhiselvan K, Balachandar D. Effect of long-term nutrient managements on biological and biochemical properties of semi-arid tropical Alfisol during maize crop development stages. *Ecological Indicators*, 2015, 48: 76-87.
- [5] He Y T, Qi Y C, Dong Y S, Xiao S S, Peng Q, Liu X C, Sun L J. Effects of nitrogen fertilization on soil microbial biomass and community functional diversity in temperate grassland in inner Mongolia, China. *Clean-Soil Air Water*, 2013, 41(12): 1216-1221.
- [6] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(8): 2351-2359.
- [7] Bai Y F, Wu J G, Clark C M, Naeem S, Pan Q M, Huang J H, Zhang L X, Xing G H. Tradeoffs and thresholds in the effects of nitrogen addition on biodiversity and ecosystem functioning: evidence from inner Mongolia Grasslands. *Global Change Biology*, 2010, 16(1): 358-372.
- [8] Alcamo J, Moreno J M, Nováky B, Bindi M, Corobov R, Devoy R J N, Giannakopoulos C, Martin E, Olesen J E, Shvidenko A. *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation And Vulnerability*. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.
- [9] 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.
- [10] Mao Q G, Lu X K, Zhou K J, Chen H, Zhu X M, Mori T, Mo J M. Effects of long-term nitrogen and phosphorus additions on soil acidification in an N-rich tropical forest. *Geoderma*, 2017, 285: 57-63.
- [11] 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.
- [12] Vitousek P M, Porder S, Houlton B Z, Chadwick O A. Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms, implications, and nitrogen-phosphorus interactions. *Ecological Applications*, 2010, 20(1): 5-15.
- [13] Tang Y Q, Zhang X Y, Li D D, Wang H M, Chen F S, Fu X L, Fang X M, Sun X M, Yu G R. Impacts of nitrogen and phosphorus additions on the abundance and community structure of ammonia oxidizers and denitrifying bacteria in Chinese fir plantations. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 103: 284-293.
- [14] Zhao J, Wang F M, Li J, Zou B, Wang X L, Li Z, 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.
- [15] Zhang N L, Liu W X, Yang H J, Yu X J, Gutknecht J L M, Zhang Z, Wan S Q, Ma K P. Soil microbial responses to warming and increased precipitation and their implications for ecosystem C cycling. *Oecologia*, 2013, 173(3): 1125-1142.
- [16] 邵英男, 刘延坤, 李云红, 陈瑶, 田松岩. 不同林分密度长白落叶松人工林土壤养分特征. *中南林业科技大学学报*, 2017, 37(9): 27-31.
- [17] 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.
- [18] 朱凡, 李天平, 郁培义, 宿少锋, 洪湘琦, 陈婷. 施氮对樟树林土壤微生物碳源代谢的影响. *林业科学*, 2014, 50(8): 82-89.
- [19] 马慧君, 张雅坤, 许文欢, 葛之藏, 阮宏华. 模拟氮沉降对杨树人工林土壤微生物群落碳源利用类型的影响. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 2017, 41(5): 1-6.
- [20] 王晶晶, 樊伟, 崔珺, 许崇华, 王泽夫, 徐小牛. 氮磷添加对亚热带常绿阔叶林土壤微生物群落特征的影响. *生态学报*, 2017, 37(24): 8361-8373.
- [21] 吴松芹, 汪成忠, 李梦莎. 模拟氮沉降对滨海湿地土壤微生物功能多样性的影响. *土壤*, 2017, 49(6): 1153-1158.
- [22] 字洪标, 代迪, 胡雷, 阿的鲁骥, 王长庭. 川西北高寒草甸土壤微生物功能多样性对磷(P)添加的响应. *土壤通报*, 2017, 48(3): 647-655.
- [23] 王芸, 欧阳志云, 郑华, 王效科, 陈法霖, 曾静, 陈圣宾. 中国亚热带典型天然次生林土壤微生物碳源代谢功能影响因素. *生态学报*, 2012, 32(6): 1839-1845.
- [24] 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.
- [25] Wang Z M, Pan L, Xue L. Effects of forest gaps on soil microbial diversity in a *Cunninghamia lanceolata* stand after a severe ice storm. *International Journal of Agriculture & Biology*, 2018, 20(5): 1161-1166.
- [26] 刘明, 李忠佩, 张桃林. 不同利用方式下红壤微生物生物量及代谢功能多样性的变化. *土壤*, 2009, 41(5): 744-748.
- [27] 郑琼, 崔晓阳, 邸雪颖, 金森. 不同林火强度对大兴安岭偃松林土壤微生物功能多样性的影响. *林业科学*, 2012, 48(5): 95-100.
- [28] 陈孟立, 曾全超, 黄懿梅, 倪银霞. 黄土丘陵区退耕还林还草对土壤细菌群落结构的影响. *环境科学*, 2018, 39(4): 1824-1832.
- [29] Lie Z Y, Wang Z M, Xue L. Effect of density of *Tephrosia candida* stands on soil characteristics. *Legume Research*, 2016, 40(3): 551-555.
- [30] 冯宜明, 李毅, 曹秀文, 刘锦乾, 齐瑞, 赵阳, 陈学龙. 甘肃南部不同密度云杉人工幼林的林分结构特征及土壤理化性质. *林业科学*, 2018, 54(10): 20-30.
- [31] 孙千惠, 吴霞, 王媚臻, 张柳桦, 姚小兰, 齐锦秋, 郝建锋. 林分密度对马尾松林林下物种多样性和土壤理化性质的影响. *应用生态学报*, 2018, 29(3): 732-738.
- [32] 赵伟文, 梁文俊, 魏曦. 不同林分密度华北落叶松人工林土壤养分特征. *西南师范大学学报: 自然科学版*, 2019, 44(4): 84-92.
- [33] 王媚臻, 毕浩杰, 金锁, 刘佳, 刘宇航, 王宇, 齐锦秋, 郝建锋. 林分密度对云顶山柏木人工林林下物种多样性和土壤理化性质的影响.

生态学报, 2019, 39(3): 981-988.

- [34] 林婉奇, 蔡金桓, 薛立. 氮磷添加与不同栽植密度交互对樟树幼苗土壤化学性质的短期影响. 生态学报, 2019, 39(24): 9162-9170.
- [35] 韦如萍, 薛立, 陈红跃, 胡德活, 谢腾芳, 王相娥. 稀土对马占相思和大叶相思种子萌发和幼苗生长的影响. 土壤通报, 2009, 40(4): 896-901.
- [36] Azad S, Manik M R, Hasan S, Matin A. Effect of different pre-sowing treatments on seed germination percentage and growth performance of *Acacia auriculiformis*. Journal of Forestry Research, 2011, 22(2): 183-188.
- [37] Kumar R, Pandey K K, Chandrashekar N, Mohan S. Study of age and height wise variability on calorific value and other fuel properties of Eucalyptus hybrid, *Acacia auriculiformis* and *Casuarina equisetifolia*. Biomass and Bioenergy, 2011, 35(3): 1339-1344.
- [38] 许松葵, 王相娥, 谢腾芳, 曾锋, 黄丽铭. 不同密度大叶相思幼林的土壤肥力. 华南农业大学学报, 2008, 29(2): 79-81.
- [39] 许松葵, 薛立, 陈红跃, 黄永芳, 刘春燕. 广州南沙典型林地土壤理化性质的研究. 土壤通报, 2006, 37(1): 36-40.
- [40] 梁丽丽, 薛立, 傅静丹, 郑卫国, 史小玲, 冯慧芳. 密度对大叶相思幼林地上竞争和地下竞争的影响. 华南农业大学学报, 2009, 30(3): 59-62.
- [41] Feng H F, Xue L. Competition-density effect of tree organs in *Acacia auriculiformis* stands. Journal of Forestry Research, 2019, 30(3): 891-898.
- [42] Feng H F, Xue L, Chen H Y. Responses of decomposition of green leaves and leaf litter to stand density, N and P additions in *Acacia auriculiformis* stands. European Journal of Forest Research, 2018, 137(6): 819-830.
- [43] 冯慧芳, 刘落鱼, 薛立. 氮磷添加及林分密度对大叶相思林土壤化学性质的影响. 植物生态学报, 2019, 43(11): 1010-1020.
- [44] 冯慧芳, 余明, 薛立. 外源性氮磷添加及林分密度对大叶相思林土壤酶活性的影响. 生态学报, 2020, 40(14): 4894-4902.
- [45] 郑丹楠, 王雪松, 谢绍东, 段雷, 陈东升. 2010 年中国大气氮沉降特征分析. 中国环境科学, 2014, 34(5): 1089-1097.
- [46] 陈微微, 寇亮, 蒋蕾, 高文龙, 杨浩, 王辉民, 李胜功. 亚热带湿地松叶片多元化学计量与养分回收对氮添加的短期响应. 应用生态学报, 2017, 28(4): 1094-1102.
- [47] 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.
- [48] Shen W S, Lin X G, Shi W M, Min J, Gao N, Zhang H Y, Yin R, He X H. Higher rates of nitrogen fertilization decrease soil enzyme activities, microbial functional diversity and nitrification capacity in a Chinese polytunnel greenhouse vegetable land. Plant and Soil, 2010, 337(1/2): 137-150.
- [49] 齐莎, 赵小蓉, 郑海霞, 林启美. 内蒙古典型草原连续 5 年施用氮磷肥土壤生物多样性的变化. 生态学报, 2010, 30(20): 5518-5526.
- [50] 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.
- [51] 肖升木, 谢学辉, 薛凯, 周集中, 柳建设. 氮沉积效应对植物生长及土壤微生物群落结构的影响. 东华大学学报: 自然科学版, 2010, 36(6): 665-669.
- [52] 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.
- [53] Liu Z F, Fu B J, Zheng X X, Liu G H. Plant biomass, soil water content and soil N: P ratio regulating soil microbial functional diversity in a temperate steppe: a regional scale study. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(3): 445-450.
- [54] Lagerlöf J, Adolfsson L, Börjesson G, Ehlers K, Vinyoles G P, Sundh I. Land-use intensification and agroforestry in the Kenyan highland: impacts on soil microbial community composition and functional capacity. Applied Soil Ecology, 2014, 82: 93-99.
- [55] Xu J X, Xue L, Su Z Y. Impacts of forest gaps on soil properties after a severe ice storm in a *Cunninghamia lanceolata* stand. Pedosphere, 2016, 26(3): 408-416.
- [56] 王华, 王辉, 赵青云, 庄辉发, 宋应辉, 朱自慧. 槟榔不同株行间距间作香草兰对土壤养分和微生物的影响. 植物营养与肥料学报, 2013, 19(4): 988-994.
- [57] 苏丹, 张凯, 陈法霖, 李睿达, 郑华. 施氮对不同有机碳水平梭梭林土壤微生物群落碳代谢的影响. 生态学报, 2015, 35(18): 5940-5947.
- [58] Sarathchandra S U, Ghani A, Yeates G W, Burch G, Cox N R. Effect of nitrogen and phosphate fertilisers on microbial and nematode diversity in pasture soils. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33(7/8): 953-964.
- [59] 杨月娟, 周华坤, 叶鑫, 姚步青, 王文颖, 赵新全, 张灏. 青藏高原高寒草甸植物群落结构和功能对氮、磷、钾添加的短期响应. 西北植物学报, 2014, 34(11): 2317-2323.
- [60] 施瑶, 王忠强, 张心昱, 孙晓敏, 刘希玉, 何念鹏, 庾强. 氮磷添加对内蒙古温带典型草原土壤微生物群落结构的影响. 生态学报, 2014, 34(17): 4943-4949.
- [61] 史静龙, 禹飞, 梁俊峰, 周光益, 赵厚本. 流溪河生态公益林下土壤细菌多样性. 微生物学通报, 2018, 45(11): 2353-2363.
- [62] 赵晓琛, 刘红梅, 皇甫超河, 王慧, 白龙, 王彩灵, 杨殿林. 贝加尔针茅草原土壤微生物功能多样性对养分添加的响应. 农业环境科学学报, 2014, 33(10): 1933-1939.
- [63] 林婉奇, 薛立. 基于 BIOLOG 技术分析氮沉降和降水对土壤微生物功能多样性的影响. 生态学报, 2020, 40(12): 4188-4197.