

DOI: 10.5846/stxb201910282256

宋战超, 王晖, 刘世荣, 胡佳佳, 明安刚, 陈海, 李朝英, 伍俊廷, 史作民, 卢立华, 蔡道雄. 南亚热带混交人工林树种丰富度与土壤微生物多样性和群落组成的关系. 生态学报, 2020, 40(22): 8265-8273.

Song Z C, Wang H, Liu S R, Hu J J, Ming A G, Chen H, Li Z Y, Wu J T, Shi Z M, Lu L H, Cai D X. Relationship between tree species richness and soil microbial diversity and community composition in a mixed planted south subtropical forest. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(22): 8265-8273.

南亚热带混交人工林树种丰富度与土壤微生物多样性和群落组成的关系

宋战超¹, 王晖^{1,*}, 刘世荣¹, 胡佳佳¹, 明安刚², 陈海², 李朝英², 伍俊廷², 史作民¹, 卢立华², 蔡道雄²

1 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 国家林业和草原局森林生态环境重点实验室, 北京 100091

2 中国林业科学研究院热带林业实验中心, 广西友谊关森林生态系统国家定位观测研究站, 凭祥 532600

摘要: 森林植被与土壤微生物作为森林生态系统的重要组成部分, 它们之间的相互作用对维持森林生态系统功能和稳定性起着重要作用。以往多在天然草地和森林生态系统开展植物多样性与土壤微生物多样性关系的研究, 但人工构建的多树种混交林生态系统中树种多样性对土壤微生物群落组成的影响及其机制尚不完全清楚。因此, 以南亚热带人工块状造林后自然恢复形成的多树种混交森林生态系统为研究对象, 利用高通量测序技术研究了随树种丰富度(1—10 种)变化土壤细菌和真菌多样性的变化规律及主要影响因子。结果表明, 随树种丰富度增加, 土壤真菌 α 多样性显著提高, 但土壤细菌 α 多样性差异不显著; 不同树种丰富度梯度间土壤细菌和真菌的群落结构组成均差异显著; Pearson 相关分析表明土壤细菌 α 多样性主要受土壤 pH 和土壤铵态氮影响, 而土壤 pH 和有效磷是土壤真菌 α 多样性的主要影响因子。距离冗余分析(db-RDA)表明, 对土壤细菌群落组成产生显著影响的环境因子分别为土壤 pH、硝态氮和芳香碳组分, 而土壤有机碳、硝态氮、细根生物量和氧烷基碳组分是影响土壤真菌群落组成的主要因子。本研究的结果说明了南亚热带人工林不同树种混交后形成多树种混交林生态系统的过程中, 树种组成和多样性的变化通过改变土壤理化性状和根系生物量对土壤微生物群落组成有显著影响, 为制定该区域人工林通过树种丰富度合理组配调控提升地下生物多样性及生态系统功能的经营策略提供了科学依据。

关键词: 南亚热带; 混交人工林; 土壤微生物; 树种丰富度; 近自然恢复

Relationship between tree species richness and soil microbial diversity and community composition in a mixed planted south subtropical forest

SONG Zhanchao¹, WANG Hui^{1,*}, LIU Shirong¹, HU Jiajia¹, MING An'gang², CHEN Hai², LI Zhaoying², WU Juntong², SHI Zuomin¹, LU Lihua², CAI Daoxiong²

1 Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Key Laboratory of Forest Ecology and Environment of National Forestry and Grassland Administration, Beijing 100091, China

2 Experimental Center of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangxi Youyiguan Forest Ecosystem Research Station, Pingxiang 532600, China

Abstract: Forest vegetation and soil microorganisms are important components of forest ecosystems, and their interaction plays an important role in maintaining the function and stability of these ecosystems. The relationship between diversities of plants and soil microbes has been studied extensively in natural grasslands and forest ecosystems. However, the effect of tree species diversity on soil microbial community composition and its mechanism in the planted forest ecosystem with multiple

基金项目: 国家自然科学基金项目(31971463, 31930078); 国家重点研发计划子课题(2018YFC0507305-2)

收稿日期: 2019-10-28; 修订日期: 2020-06-01

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wanghui@caf.ac.cn

tree species remains unclear. Therefore, this study focused on the mixed planted forest ecosystem through close-to-nature restoration in south subtropical China, and examined the effect of tree species diversity (1—10 species) on the diversity of soil bacteria and fungi and the main influencing factors, using the high-throughput Illumina sequencing method. The results showed that the α -diversity of the soil fungi increased significantly with the increase in tree species diversity; however, α -diversity of the soil bacteria did not change significantly with the increase in tree species diversity. The community composition of soil bacteria and fungi differed significantly among the different tree species diversity levels. The Pearson's correlation analysis showed that the soil bacterial α -diversity was mainly affected by soil pH and $\text{NH}_4^+\text{-N}$, whereas soil pH and available phosphorus were the main factors affecting the soil fungal α -diversity. Distance-based redundancy analyses showed that soil pH, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, and aromatic C were the main environmental factors affecting the soil bacterial community composition, whereas soil organic carbon, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, fine root biomass, and O-alkyl C were the main factors affecting the soil fungal community composition. Our study indicated that tree species diversity had a significant influence on the soil microbial community by changing the physical and chemical properties of the soil and the root biomass in the mixed planted forest ecosystem with different tree species in this south subtropical region. The study provides a basis for decision-making for increasing ecosystem function through an appropriate assembly of tree species diversity in subtropical planted forests.

Key Words: south subtropical; mixed planted forest; soil microorganisms; tree species diversity; close-to-nature restoration

土壤微生物在森林生态系统中发挥着不可替代的重要作用,积极参与到森林生态系统养分转化和循环^[1],对维持森林生态系统稳定和功能以及植物多样性至关重要^[2]。森林土壤微生物群落结构和多样性受林下凋落物性质和土壤根系分泌物等生物因子及土壤环境等非生物因子的共同影响^[3-5]。同时,土壤微生物通过对土壤理化性质和土壤肥力作用,影响森林植被生物量和生产力^[6]。

近年来,研究生态系统地上和地下生物多样性之间的联系一直是生态研究的热点。针对土壤微生物群落与植物群落关系的研究越来越多,但多以草地生态系统或天然林生态系统为主。Zak 等^[7]研究了植物多样性对土壤微生物的影响,发现随着植物多样性的增加,土壤真菌生物量明显增加。青藏高原天然草原的研究发现,随着植物多样性的增加,真菌 α 和 β 多样性分别相应增加^[8]。Chen 等^[9]在我国亚热带森林的不同树种多样性梯度实验研究显示,树种特性是主导土壤细菌和真菌群落多样性和结构变化主要因素,且对土壤真菌的影响比土壤细菌效果更强,而树种多样性并非为主要影响因子。基于我国亚热带森林生物多样性与生态系统功能实验,发现了不同功能型土壤真菌驱动亚热带森林群落多样性的作用模式^[10]。有关生物多样性与生态系统功能关系的研究表明,生物多样性是生态系统功能的主要驱动力^[11]。不同树种在森林群落中占据不同的高度和空间从而创造了更多的生态位,促进了群落利用阳光等环境资源的能力,提高了森林生态系统生物量和生产力。而我国人工林以单一树种种植为主,由于生物多样性下降,森林各种功能与生产力得不到充分发挥,降低了森林适应能力和稳定性,还会造成地力衰退、森林系统功能退化等问题^[12]。如在我国南方地区大面积分布的桉树人工纯林,丛枝菌根真菌的种丰度随种植年份的增加逐渐下降,优势种 *Funnelforms geosporus* 的丰度在 2 年生和 10 年生林地中显著降低^[13]。但是,树种多样性增加使森林植被组成和生态系统结构、功能趋于复杂,更多树种混交后树种多样性会随之增加以及树种功能特性发生重叠,不同气候区、不同类型森林生态系统植物种类和环境等条件差异也比较大,因此尚需通过研究进一步增强对森林植物多样性与土壤微生物多样性关系以及潜在机制的认知,进而提高有关土壤微生物对“树种多样性与土壤理化性质和肥力”关系影响机制的理解。

亚热带森林生态系统是我国陆地碳汇潜力的主要来源^[14]。我国南方亚热带地区树种多样性丰富,人工林的面积和蓄积均居全国之首。Huang 等^[15]通过野外多树种新造林实验研究发现随树种多样性增加林分生产力显著增加。本研究面向人工林生态系统固碳增汇功能提升的国家需求,针对土壤微生物群落组成与树种

多样性关联机制这一关键科学问题,选取我国南亚热带经近 40 年近自然管理形成的多树种、多层次、天然更新良好的异龄混交人工林生态系统为对象,采用高通量测序技术研究随树种丰富度变化土壤微生物 α 多样性和群落组成的变化,以及主要的生物和环境驱动因子,旨在探讨多树种混交如何对南亚热带人工林土壤微生物生物量和群落结构组成产生影响,为进一步揭示树种多样性与地下土壤微生物多样性关系提供科学依据,并为制定该区域人工林通过树种丰富度合理组配调控提升生态系统功能的经营策略提供科技支撑。

1 材料和方法

1.1 研究区概况与实验设计

研究区位于广西壮族自治区凭祥市中国林业科学研究院热带林业实验中心国家林业和草原局广西友谊关森林生态系统定位研究站(22°06'50"—22°07'27"N, 106°46'48"—106°47'22"E)。该地区属典型南亚热带季风气候区,海拔约 300 m,年平均气温 20.5—21.7℃,年平均降雨量 1200—1500 mm,多集中在 4—9 月份。主要地貌类型以低山丘陵为主,土壤以砖红壤和红壤为主,成土母岩主要有泥岩夹砂岩、砾状灰岩和石灰岩等。本研究的试验区在杉木林采伐迹地,自 1979 年选取 21 个乡土树种以块状混交布局建立的试验林,经过近 40 年的人工经营和天然更新,试验区已形成多树种、复层结构的混交人工林,试验区面积 100 hm²。

在试验区内随机设置 54 个 20 m × 20 m 样地,并对每个样地内胸径(Diameter at breast height, DBH) ≥ 1 cm 林木的胸径、树高和坐标进行每木调查。依据每个样地内的树种丰富度将 54 个样地划分成 10 组,形成由 1—10 个树种的丰富度梯度。其中第一组(1 个树种)有 7 个样地,第二组(2 个树种)有 7 个样地,第三组(3 个树种)有 3 个样地,第四组(4 个树种)有 4 个样地,第五组(5 个树种)有 4 个样地,第六组(6 个树种)有 7 个样地,第七组(7 个树种)有 5 个样地,第八组(8 个树种)有 10 个样地,第九组(9 个树种)有 3 个样地,第十组(10 个树种)有 4 个样地,各样地的树种组成详见附件 7。

1.2 样品采集与处理

2018 年 6 月采集土壤样品,测定土壤微生物和理化性质。用不锈钢取土钻在每个样方内随机采集 12 个直径 5.0 cm 的土芯,取土深度为矿质土壤层 0—10 cm,将 12 个土样均匀混合成一个复合样品,共计 54 个土壤复合样品。土样过 2 mm 筛,分拣出样品中的石头、根系和其他动物残体。新鲜土用于土壤微生物 DNA 提取和土壤铵态氮(NH₄⁺-N)、硝态氮(NO₃⁻-N)、有效磷(AP)、pH 值测定,风干土用于土壤总有机碳(SOC)、全氮(TN)和土壤有机碳化学结构等化学性质分析。

1.3 土壤理化性质、细根生物量和碳化学组分的测定

土壤 pH 值采用 FE20 pH 计测定,土水比为 1:2.5。采用重铬酸钾外加热法和凯氏定氮法分别测定土壤有机碳和全氮含量^[16]。采用盐酸和硫酸萃取后分光光度法测定土壤有效磷含量^[17]。采用 2 mol/L KCl 浸提,靛酚蓝比色法测定铵态氮,紫外分光光度法测定硝态氮^[18]。

土样过 2 mm 筛时,挑选出直径 ≤ 2 mm 的细根活体,用水反复冲洗去除附着在根系表面的泥土后,放置烘箱用 65℃ 烘干至恒重,用电子天平称重(精确到 0.001 g),依据如下公式计算各样地的细根生物量:

$$\text{细根生物量}(\text{g}/\text{m}^2) = \text{平均每个土芯中细根干重}(\text{g}) / [\pi(\Phi/2)^2 \times (\text{m}^2/10^4 \text{ cm}^2)] (\Phi = 5.0 \text{ cm})$$

采用¹³C 固体核磁共振波谱(¹³C CPMAS NMR)分析土壤有机碳不同化学组分比例。¹³C 固体核磁共振波谱被分为四组化学位移区域,以此区分土壤有机碳的不同组分:烷基碳($\delta = 0—45$, alkyl C),氧烷基碳($\delta = 45—110$, O-alkyl C),芳香碳($\delta = 110—160$, aromatic C),羰基碳($\delta = 160—210$, carbonyl C)。

1.4 土壤微生物总 DNA 提取和高通量测定

称取约 0.25 g 经冷冻干燥处理的土壤样品,使用 MO BIO PowerSoil(MO BIO Laboratories, Carlsbad, USA)试剂盒提取土壤微生物总 DNA,采用 NanoDrop 分光光度计进行定量提取 DNA 的质量和浓度,并用 1% 琼脂糖凝胶电泳对提取的 DNA 质量进行检测,合格后用于构建文库;以各土壤样品微生物总 DNA 为模板,以细菌 V4 和 V5 区特异性引物(15F 5'-GTGCCAGCMGCCGCGTAA-3'; 926R 5'-CCGTCAATTCMTTGTAGTTT-3')^[19]

和真菌 ITS1 区特异性引物 (ITS1F 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'; 2043R 5'-GCTGCGTTCTTCATC GATGC-3')^[20] 进行 PCR (polymerase chain reaction) 扩增; 采用 Illumina MiSeq 测序平台对 PCR 扩增产物进行两端测序分析, 微基生物科技(上海)有限公司完成测序。

土壤微生物目标片段的 PCR 产物测序完成后, 对有效序列进行质控、拼接和精确去杂等处理, 得到优化序列。优质序列利用 Usearch 软件基于 97% 的相似水平进行分类操作单元 (operational taxonomic units, 简称 OTUs)。根据 Silva 细菌数据库^[21] 和 Unite^[22] 真菌数据库利用 RDP Classifier 进行物种注释和分类。利用 QIIME (Version 1.7.0) 软件依据样本文库的 OTUs 丰度信息计算土壤样品的细菌和真菌多样性 (Faith's Phylogenetic Diversity, Faith's PD 指数)。利用 R 语言软件 VEGAN 包对土壤细菌和真菌 β 多样性进行了距离冗余分析 (Distance-based redundancy analyses, db-RDA), 并筛选主要解释变量。

1.5 统计分析

本研究中土壤细菌 α 多样性和真菌 α 多样性均采用 Faith's PD 指数指示。采用 Pearson 相关方法分析土壤细菌和真菌 α 多样性 (丰富度) 随树种丰富度的变化^[9]。利用逐步回归方法, 分析并筛选影响土壤细菌和真菌群落 α 多样性的主要生物和环境因子^[23]。选取的自变量为土壤 pH、AP、SOC、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 C/N, 以及土壤有机碳化学组分烷基碳、氧烷基碳、芳香碳、羰基碳和细根生物量。以上统计分析在 SPSS 23.0 软件完成。采用 PerMANOVA 分析土壤细菌和真菌 β 多样性 (群落组成) 是否随树种丰富度变化存在差异^[24]。各项统计在 $P < 0.05$ 水平上分析。使用 EXCEL 2010 和 ORIGIN 2017 作图。

2 结果与分析

2.1 树种丰富度与土壤细菌和真菌 α 多样性的关系

通过对本研究的人工林树种丰富度梯度序列样地建立不同树种丰富度梯度 (1—10 个树种) 与土壤细菌 α 多样性之间的相关关系, 树种丰富度与土壤细菌 α 多样性的关系如图 1 所示。Pearson 相关分析的结果表明, 土壤细菌 α 多样性随树种丰富度增加整体间存在增加的趋势, 但影响不显著 ($P > 0.05$)。通过对土壤细菌 α 多样性和土壤理化性质关系的分析, 发现土壤细菌 α 多样性与土壤 pH 和芳香碳组分呈显著正相关 ($P < 0.05$), 而与有机碳、铵态氮、碳氮比、烷基碳组分及细根生物量呈显著负相关 ($P < 0.05$)。采用逐步回归分析揭示土壤理化性质与土壤细菌 α 多样性之间的关系, 结果表明土壤 pH 和铵态氮是土壤细菌 α 多样性变化的主要影响因素 (表 1)。

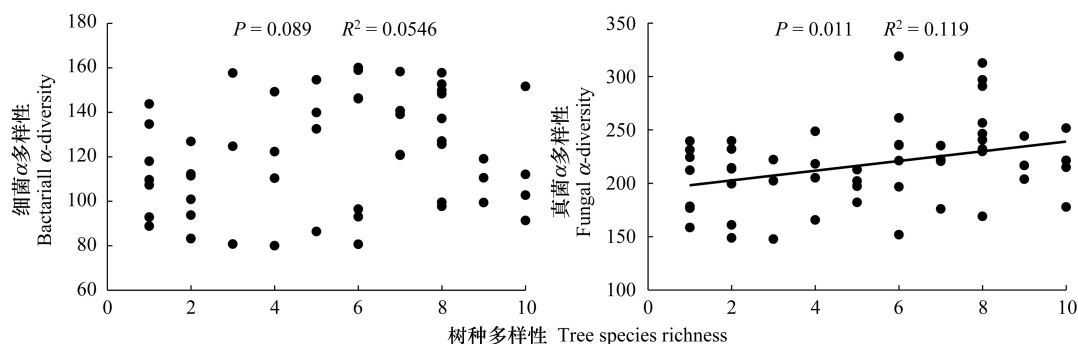


图 1 树种丰富度与土壤细菌 α 多样性和真菌 α 多样性的关系

Fig.1 Relationship of tree species diversity on soil bacterial α -diversity and fungal α -diversity

树种丰富度与土壤真菌 α 多样性的关系如图 1 所示。Pearson 相关分析的结果表明, 土壤真菌 α 多样性与树种丰富度之间存在显著正相关关系 ($P < 0.05$), 随树种丰富度增加, 土壤真菌 α 多样性显著提高。通过对土壤细菌 α 多样性和土壤理化性质关系的分析, 发现土壤真菌 α 多样性与土壤 pH 和碳氮比呈显著正相关 ($P < 0.05$), 而与细根生物量呈显著负相关 ($P < 0.05$)。逐步回归分析表明土壤 pH 和有效磷是土壤真菌 α 多

样性变化的主要影响因素(表 1)。

表 1 土壤细菌和真菌 α 多样性与环境因子的多元统计结果

Table 1 Multivariate statistical results of soil bacteria and fungi α -diversity with environmental factors

微生物类群 Microbial community	因子 Factors	回归方程 Regression equation	R^2	P
细菌 Bacteria	NH_4^+-N (mg/kg) pH	Bacterial α -diversity = $-118.882 + 52.109 \text{ pH} - 0.579 \text{ NH}_4^+-\text{N}$	0.80	0.001
真菌 Fungi	pH AP (mg/kg)	Fungal α -diversity = $-86.602 + 53.624 \text{ pH} + 2.097 \text{ AP}$	0.34	0.001

2.2 不同树种丰富度土壤细菌和真菌群落组成变化

对不同树种丰富度土壤微生物群落组成进行 PerMANOVA 分析, 结果发现土壤细菌 β 多样性在不同树种丰富度之间存在显著差异(表 2)。对 54 个土壤样品进行 Illumina MiSeq 高通量测序, 数据经过滤优化, 共得到 1964785 个细菌优化序列, 平均每个样品 36385 个序列, 共得到 4769 个 OTUs。在纲水平上土壤细菌群落共鉴定 48 纲, 相对丰度大于 1% 的纲共 15 个。样品中土壤细菌群落主要由酸杆菌纲 (13.19%)、 α 变形菌纲 (13.06%)、 γ 变形菌纲 (9.85%)、 β 变形菌纲 (6.00%) 和 δ 变形菌纲 (5.61%) 组成, 其他微生物种类以低丰度 (小于 5.00%) 存在, 如: 纤维杆菌纲 (3.45%)、浮霉菌纲 (0.80%)。树种丰富度增加变化改变了土壤细菌 β 多样性, 在不同树种丰富度梯度下 α 变形菌纲、迷踪菌纲、 γ 变形菌纲、浮霉菌纲、Ignavibacteria (未命名) 和螺旋体纲差异显著 ($P < 0.05$) (图 2)。

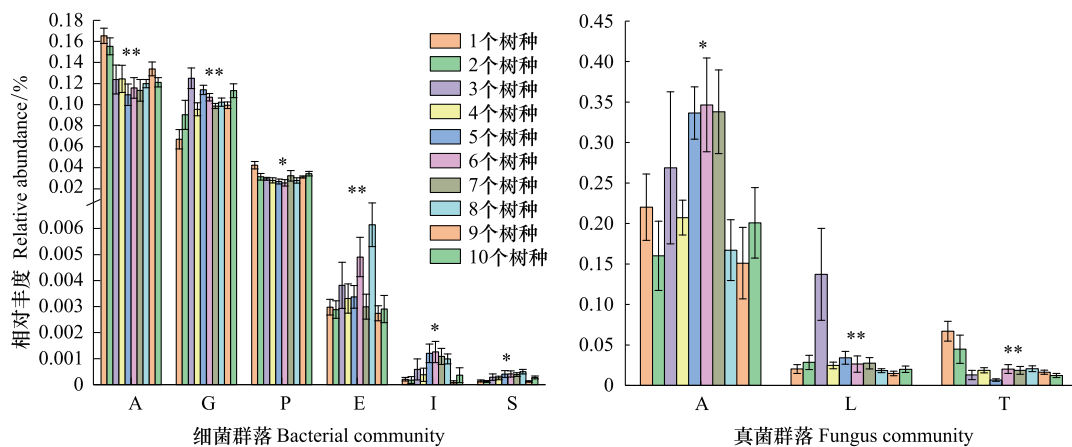


图 2 不同树种丰富度与土壤细菌群落和真菌群落组成变化

Fig.2 Diversity of different tree species and composition of soil bacterial community and fungal community

细菌群落中 A: α 变形菌纲; G: γ 变形菌纲; P: 浮霉菌纲; E: 迷踪菌纲; I: Ignavibacteria, 未命名; S: 螺旋体纲; 真菌群落中 A: 伞菌纲; L: 茶渍纲; T: 银耳纲; ** 表示显著水平 $P < 0.01$, * 表示显著水平 $P < 0.05$

表 2 不同树种丰富度梯度下土壤细菌和真菌群落 PerMANOVA 分析

Table 2 Bacterial and Fungal community composition at different tree species gradient based on one-way PerMANOVA analysis

微生物类群 Microbial community	F . Model	R^2	P
细菌 Bacteria	3.584	0.202	0.001
真菌 Fungi	1.522	0.200	0.002

在不同树种丰富度梯度下土壤真菌 β 多样性存在显著差异(表 2)。真菌测序共得到 2068537 个优化序列, 聚集在 8124 个 OTUs 中, 平均每个样品 38306 个序列。在纲水平上土壤真菌群落共鉴定 34 纲, 相对丰度大于 1% 的纲共 8 个。样品中土壤真菌群落主要由伞菌纲 (23.38%) 组成, 其他种群丰度相对较低, 如茶渍纲

(3.07%)、银耳纲(2.84%)。土壤真菌群落中的伞菌纲、茶渍纲和银耳纲在不同树种丰富度梯度下差异显著($P < 0.05$) (图 2)。

2.3 环境变量对土壤细菌和真菌群落组成的影响

采用 db-RDA 分析来评估环境变量对土壤细菌群落组成的影响。分析结果显示,土壤细菌群落在第一主轴(横轴)主要由土壤 pH 和芳香碳组分贡献,累计解释变量达到 92.86%。第二主轴(纵轴)累计解释变量为 5.81%,主要由土壤硝态氮贡献。土壤细菌群落组成与土壤环境因子密切相关,土壤 pH、硝态氮和芳香碳组分是树种丰富度梯度间土壤细菌群落组成差异的主要影响因素(图 3)。

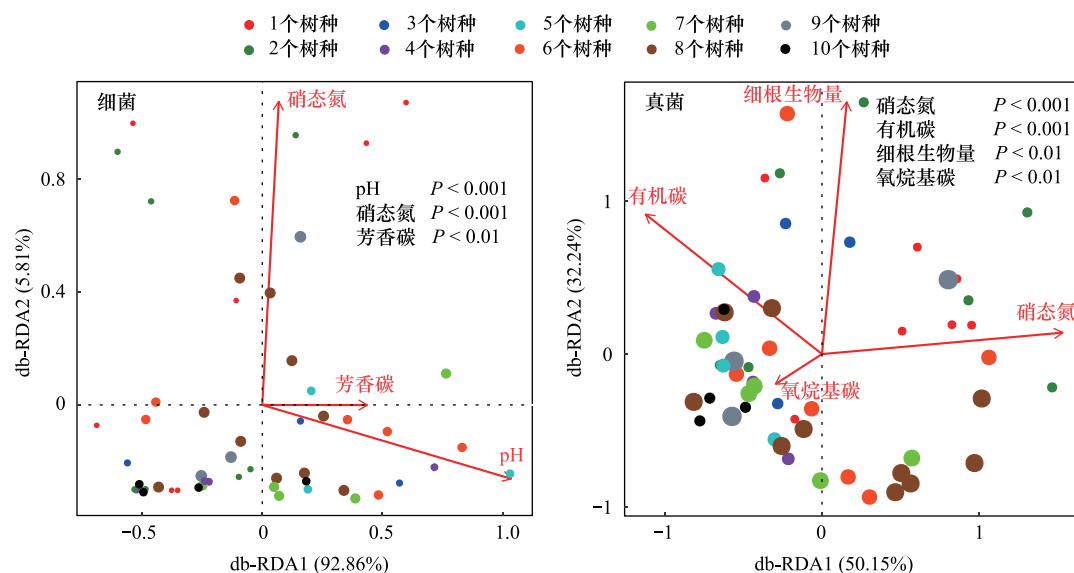


图 3 土壤细菌和真菌群落组成与环境变量的 db-RDA 分析

Fig. 3 Distance-based redundancy analyses (db-RDA) plot showing the relationship of abiotic factors to community composition of bacteria and fungi

不同树种丰富度梯度下环境变量与土壤真菌群落组成的 db-RDA 分析如图 3 所示。两轴共解释土壤真菌群落结构 82.39% 的变异,其中第一主轴(横轴)累计解释变量为 50.15%,主要由土壤硝态氮贡献;第二主轴(纵轴)累计解释变量为 32.24%,主要由细根生物量贡献。结果表明土壤硝态氮、有机碳、细根生物量和氧烷基碳组分是影响土壤真菌群落组成在不同树种丰富度梯度间差异的主要因素。

3 讨论

3.1 南亚热带混交人工林树种丰富度与土壤微生物 α 多样性的关系

前人有关植物多样性与土壤微生物群落组成的研究主要在草原^[25]和天然林生态系统^[26]开展,并发现植物多样性增加会提高土壤真菌 α 多样性。本研究中也得到了相似的结果,在南亚热带经近 40 年近自然管理,形成的多树种、多层次、天然更新良好的异龄混交人工林生态系统中,土壤真菌 α 多样性随着树种丰富度增加而提高(图 1)。通过人工混交不同乡土树种,进而构建成自然恢复并天然更新的混交人工林生态系统中树种丰富度与土壤微生物 α 多样性的关系趋近于天然草地和森林所呈现的规律的现象一般性的解释是有更高物种丰富度的生态系统能更有效地利用各种资源,有更高的生产力并创造了更多的生态位从而容纳了更多的土壤微生物(互补假说)^[5,27]。但在本研究中还发现不同树种丰富度下土壤细菌 α 多样性差异不显著,说明了树种丰富度与土壤真菌 α 多样性的相关性较之与土壤细菌 α 多样性的相关性更明显。Johnson^[28]等研究认为细菌多样性和植物多样性不相关,这与本研究结果一致。有研究发现,土壤微生物更依赖于某种特定植物的存在(单一假说),而不是植物多样性本身^[29-30]。因此,在下一步的研究中,将更深入的开展树种功能特

性对土壤微生物功能类群影响机制的研究,并进一步辨析地下微生物过程的变化是由树种丰富度还是树种特性主导。

本研究中相关分析结果表明,土壤细菌和真菌 α 多样性与土壤理化因子呈现不同程度的相关性,说明该区域土壤理化因子是影响微生物数量的关键因素。Shen 等^[31] 在长白山研究了 6 种典型植被类型,分析了随海拔梯度土壤细菌群落组成和多样性的变化趋势,发现土壤细菌分布主要受土壤 pH 驱动。朱平等^[32] 通过研究祁连山 4 种不同植被类型对土壤微生物的影响也得出了相似的结论。在本研究中,试验区内土壤细菌 α 多样性与土壤 pH 和铵态氮显著相关($P < 0.05$),印证了土壤 pH 同样是影响本研究中南亚热带多树种人工林生态系统树种丰富度之间土壤细菌群落分布主要因子。本研究还发现树种丰富度增加显著提高了土壤 pH,从而改善了研究区内土壤微生物生存环境,可能是土壤微生物多样性增加的原因。庄林杰等^[33] 研究了从湖泊到岸边深层土壤中土壤微生物变化情况,发现细菌多样性与土壤铵态氮呈负相关,与本研究结果一致。其原因可能是土壤中铵态氮增加导致土壤酸化^[34],而通常认为土壤细菌群落在中性 pH 条件下丰富度和多样性较高^[35],本研究中 pH 与土壤细菌多样性的正相关关系也为此提供了依据。在森林生态系统中树种丰富度增加会改变森林凋落物输入量和凋落物分解过程,进而影响土壤中养分含量。有研究表明,真菌群落相较于细菌群落更直接的依赖于树木凋落物,且许多真菌与树种根系共生形成菌根,使得真菌类群与树木的生物营养相互作用更强^[36],这可能是本研究中真菌 α 多样性受土壤有效磷影响的原因。

3.2 南亚热带混交人工林树种丰富度变化影响土壤微生物群落组成

本研究的多树种混交人工林生态系统中树种丰富度增加显著改变了土壤微生物群落组成,与以往在我国亚热带天然林开展的研究结果相一致^[9]。土壤微生物分布广泛且适应性强,但在特定区域的土壤微生物群落组成受到林下特定环境因素的调控。许多研究表明,在森林生态系统中植物群落多样性对土壤微生物群落结构具有显著影响^[28,37]。土壤细菌群落以酸杆菌和 α 变形菌为主,但就具体细菌菌群而言,随树种丰富度增加菌群并没有表现出明显增加或者减少的趋势。Xia^[38] 等人对我国典型森林土壤细菌群落的研究发现,土壤细菌丰度排在前五位的菌群分别为放线菌、酸杆菌、 α 变形菌、疣微菌和浮霉菌。本研究中不同树种丰富度下土壤细菌群落中 α 变形菌差异性显著。由此可见,树种丰富度增加通过改变相对丰度较高的土壤细菌菌群使土壤细菌群落组成差异性显著(图 2)。在本研究中土壤真菌群落组成变化也表现出相似的现象,伞菌纲作为土壤真菌群落中的重要组成菌群,在不同树种丰富度梯度下差异性显著(图 2)。

人工林不同树种组成可通过影响森林生态系统中凋落物数量和质量,根系生物量、根系周转和根系分泌物等对土壤理化性质和土壤养分产生不同的影响,进而改变土壤微生物的生物量和群落组成^[34,36]。土壤 pH 参与土壤生物地球化学循环过程并对土壤理化性质具有重要的调节作用,是影响细菌群落组成的重要因子。本研究中 db-RDA 分析表明土壤细菌群落组成差异中的 98.67% 能够被土壤 pH、硝态氮和芳香碳组分三个环境变量所解释,其中土壤 pH 占主要贡献(图 3),结合土壤 pH 对土壤细菌 α 多样性的显著影响,说明了土壤 pH 是影响土壤细菌群落组成和多样性的主要因素。适宜的 pH 为土壤微生物提供了良好的生存条件,土壤 pH 值能够通过影响土壤基质的组成、化学性质从而改变土壤微生物多样性和群落组成。本研究中土壤硝态氮、有机碳、细根生物量和氧烷基碳组分是导致土壤真菌群落差异的主要影响因素(图 3)。Wang^[24] 等人研究表明在南亚热带氮肥添加导致土壤中铵态氮和硝态氮含量增加,从而改变土壤 pH,这可能是土壤硝态氮影响土壤真菌群落组成的原因。土壤有机质作为土壤理化性质的重要指标之一,是土壤养分循环转化的核心。土壤有机碳含量的变化能够影响土壤肥力和土壤微生物群落的变化^[39]。王森等^[40] 研究结果也表明土壤理化性质特别是土壤养分状况的差异是土壤微生物群落结构差异的主要影响因素。树种丰富度增加,往往会对根系的分布和生物量产生较大影响^[41],通过改变根系分泌物从而导致土壤微生物群落变化。字洪标等^[42] 通过对青海 7 种不同林分土壤微生物群落结构的研究表明,细根生物量是导致土壤微生物群落差异的因素之一,与本文研究结果相一致。

4 结论

本研究选取了南亚热带多树种混交人工林为研究对象,研究了人工林树种丰富度对土壤微生物多样性和群落组成的影响。结果表明,树种丰富度增加对土壤微生物多样性和群落结构具有一定的影响,其中土壤真菌表现出比细菌更加敏感的反应。土壤 pH 是影响土壤细菌多样性和群落组成的主要影响因子,土壤碳氮组分和细根是影响土壤真菌多样性和群落组成关键因素。研究结果说明了南亚热带不同乡土树种块状混交后天然更新形成多树种混交林过程中,树种组成和多样性的变化通过改变土壤理化性状和根系生物量对土壤微生物群落有显著影响。

参考文献 (References):

- [1] 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.
- [2] Fraterrigo J M, Balser T C, Turner M G. Microbial community variation and its relationship with nitrogen mineralization in historically altered forests. *Ecology*, 2006, 87(3): 570-579.
- [3] He Z M, Yu Z P, Huang Z Q, Davis M, Yang Y S. Litter decomposition, residue chemistry and microbial community structure under two subtropical forest plantations: a reciprocal litter transplant study. *Applied Soil Ecology*, 2016, 101: 84-92.
- [4] 梁儒彪, 梁进, 乔明锋, 徐振锋, 刘庆, 尹华军. 模拟根系分泌物 C:N 化学计量特征对川西亚高山森林土壤碳动态和微生物群落结构的影响. *植物生态学报*, 2015, 39(5): 466-476.
- [5] Wardle D A. The influence of biotic interactions on soil biodiversity. *Ecology Letters*, 2006, 9(7): 870-886.
- [6] Saleem M, Hu J, Jousset A. More than the sum of its parts: microbiome biodiversity as a driver of plant growth and soil health. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2019, 50: 145-168.
- [7] Zak D R, Holmes W E, White D C, Peacock A D, Tilman D. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links? *Ecology*, 2003, 84(8): 2042-2050.
- [8] Yang T, Adams J M, Shi Y, He J S, Jing X, Chen L T, Tedersoo L, Chu H Y. Soil fungal diversity in natural grasslands of the Tibetan Plateau: associations with plant diversity and productivity. *New Phytologist*, 2017, 215(2): 756-765.
- [9] Chen L, Xiang W H, Wu H L, Ouyang S, Zhou B, Zeng Y L, Chen Y L, Yakov K. Tree species identity surpasses richness in affecting soil microbial richness and community composition in subtropical forests. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 130: 113-121.
- [10] Chen L, Swenson N G, Ji N N, Mi X C, Ren H B, Guo L D, Ma K P. Differential soil fungus accumulation and density dependence of trees in a subtropical forest. *Science*, 2019, 366(6461): 124-128.
- [11] Luo Y H, Cadotte M W, Burgess K S, Liu J, Tan S L, Zou J Y, Xu K, Li D Z, Gao L M. Greater than the sum of the parts: how the species composition in different forest strata influence ecosystem function. *Ecology Letters*, 2019, 22(9): 1449-1461.
- [12] 彭舜磊, 王得祥, 赵辉, 杨涛. 我国人工林现状与近自然经营途径探讨. *西北林学院学报*, 2008, 23(2): 184-188.
- [13] 李佳雨, 林家怡, 裴晨羽, 黄林, 黄锐洲, 唐光大. 桉树种植对林地土壤丛枝菌根真菌群落结构及多样性的影响. *生态学报*, 2019, 39(8): 2723-2731.
- [14] Zhu X J, Yu G R, He H L, Wang Q F, Chen Z, Gao Y N, Zhang Y P, Zhang J H, Yan J H, Wang H M, Zhou G S, Jia B R, Xiang W H, Li Y N, Zhao L, Wang Y F, Shi P L, Chen S P, Xin X P, Zhao F H, Wang Y Y, Tong C L, Fu Y L, Wen X F, Liu Y C, Zhang L M, Zhang L, Su W, Li S G, Sun X M. Geographical statistical assessments of carbon fluxes in terrestrial ecosystems of China: results from upscaling network observations. *Global and Planetary Change*, 2014, 118: 52-61.
- [15] Huang Y Y, Chen Y X, Castro-Izaguirre N, Baruffol M, Brezzi M, Lang A N, Li Y, Härdtle W, von Oheimb G, Yang X F, Liu X J, Pei K Q, Both S, Yang B, Eichenberg D, Assmann T, Bauhus J, Behrens T, Buscot F, Chen X Y, Chesters D, Ding B Y, Durka W, Erfmeier A, Fang J Y, Fischer M, Guo L D, Guo D L, Gutknecht J L M, He J S, He C L, Hector A, Hönig L, Hu R Y, Klein A M, Kühn P, Liang Y, Li S, Michalski S, Scherer-Lorenzen M, Schmidt K, Scholten T, Schuldt A, Shi X Z, Tan M Z, Tang Z Y, Trogisch S, Wang Z W, Welk E, Wirth C, Wubet T, Xiang W H, Yu M J, Yu X D, Zhang J Y, Zhang S R, Zhang N L, Zhou H Z, Zhu C D, Zhu L, Bruehlheide H, Ma K P, Niklaus P A, Schmid B. Impacts of species richness on productivity in a large-scale subtropical forest experiment. *Science*, 2018, 362(6410): 80-83.
- [16] Sparks D L, Page A L, Helmke P A, Loeppert R H, Soltanpour P N, Tabatabai M A, Johnston C T, Sumner M E. *Methods of Soil Analysis. Part 3-Chemical Methods*. Madison: Soil Science Society of America Inc, 1996.
- [17] 郑必昭. 土壤分析技术指南. 北京: 中国农业出版社, 2013.
- [18] 刘光崧. 土壤理化分析与剖面描述. 北京: 中国标准出版社, 1996.
- [19] Xiong J B, Ye X S, Wang K, Chen H P, Zhu J L, Zhang D M. Biogeography of the sediment bacterial community responds to a nitrogen pollution gradient in the East China Sea. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(6): 1919-1925.
- [20] Uroz S, Oger P, Tisserand E, Cébron A, Turpault M P, Buée M, de Boer W, Leveau J H J, Frey-Klett P. Specific impacts of beech and Norway spruce on the structure and diversity of the rhizosphere and soil microbial communities. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 27756.
- [21] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, Cole J R. Naive bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261-5267.

- [22] Pitta D W, Parmar N, Patel A K, Indugu N, Kumar S, Prajapathi K B, Patel A B, Reddy B, Joshi C. Bacterial diversity dynamics associated with different diets and different primer pairs in the rumen of Kankrej cattle. *PLoS One*, 2014, 9(11): e111710.
- [23] 王岳坤, 洪葵. 红树林土壤因子对土壤微生物数量的影响. *热带作物学报*, 2005, 26(3): 109-114.
- [24] Wang H, Liu S R, Zhang X, Mao Q G, Li X Z, You Y M, Wang J X, Zheng M H, Zhang W, Lu X K, Mo J M. Nitrogen addition reduces soil bacterial richness, while phosphorus addition alters community composition in an old-growth N-rich tropical forest in southern China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 127: 22-30.
- [25] Chen Y L, Xu T L, Veresoglou S D, Hu H W, Hao Z P, Hu Y J, Liu L, Deng Y, Rillig M C, Chen B D. Plant diversity represents the prevalent determinant of soil fungal community structure across temperate grasslands in northern China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 110: 12-21.
- [26] Hiiesalu I, Bahram M, Tedersoo L. Plant species richness and productivity determine the diversity of soil fungal guilds in temperate coniferous forest and bog habitats. *Molecular Ecology*, 2017, 26(18): 4846-4858.
- [27] Hooper D U, Bignell D E, Brown V K, Brussaard L, Dangerfield J M, Wall D H, Wardle D A, Coleman D C, Giller K E, Lavelle P, Van Der Putten W H, De Ruiter P C, Rusek J, Silver W L, Tiedje J M, Wolters V. Interactions between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: patterns, mechanisms, and feedbacks: we assess the evidence for correlation between aboveground and belowground diversity and conclude that a variety of mechanisms could lead to positive, negative, or no relationship—depending on the strength and type of interactions among species. *BioScience*, 2000, 50(12): 1049-1061.
- [28] Johnson D, Booth R E, Whiteley A S, Bailey M J, Read D J, Grime J P, Leake J R. Plant community composition affects the biomass, activity and diversity of microorganisms in limestone grassland soil. *European Journal of Soil Science*, 2003, 54(4): 671-678.
- [29] Porazinska D L, Bardgett R D, Blaauw M B, Hunt H W, Parsons A N, Seastedt T R, Wall D H. Relationships at the aboveground-belowground interface: plants, soil biota, and soil processes. *Ecological Monographs*, 2003, 73(3): 377-395.
- [30] Eisenhauer N, Beßler H, Engels C, Gleixner G, Habekost M, Milcu A, Partsch S, Sabais A C W, Scherber C, Steinbeiss S, Weigelt A, Weisser W W, Scheu S. Plant diversity effects on soil microorganisms support the singular hypothesis. *Ecology*, 2010, 91(2): 485-496.
- [31] Shen C C, Xiong J B, Zhang H Y, Feng Y Z, Lin X G, Li X Y, Liang W J, Chu H Y. Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 204-211.
- [32] 朱平, 陈仁升, 宋耀选, 韩春坛, 刘光琇, 陈拓, 张威. 祁连山中部 4 种典型植被类型土壤细菌群落结构差异. *生态学报*, 2017, 37(10): 3505-3514.
- [33] 庄林杰, 夏超, 田晴, 朱艳彬, 祝贵兵. 高通量测序技术研究典型湖泊岸边陆向深层土壤中厌氧氨氧化细菌的群落结构. *环境科学学报*, 2017, 37(1): 261-271.
- [34] Wang R Z, Filley T R, Xu Z W, Wang X, Li M H, Zhang Y G, Luo W T, Jiang Y. Coupled response of soil carbon and nitrogen pools and enzyme activities to nitrogen and water addition in a semi-arid grassland of Inner Mongolia. *Plant and Soil*, 2014, 381(1/2): 323-336.
- [35] Lauber C L, Hamady M, Knight R, Fierer N. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(15): 5111-5120.
- [36] Gao C, Shi N N, Liu Y X, Peay K G, Zheng Y, Ding Q, Mi X C, Ma K P, Wubet T, Buscot F, Guo L D. Host plant genus-level diversity is the best predictor of ectomycorrhizal fungal diversity in a Chinese subtropical forest. *Molecular Ecology*, 2013, 22(12): 3403-3414.
- [37] Liu Z F, Liu G H, Fu B J, Zheng X X. Relationship between plant species diversity and soil microbial functional diversity along a longitudinal gradient in temperate grasslands of Hulunbeir, Inner Mongolia, China. *Ecological Research*, 2008, 23(3): 511-518.
- [38] Xia Z W, Bai E, Wang Q K, Gao D C, Zhou J D, Jiang P, Wu J B. Biogeographic distribution patterns of bacteria in typical Chinese forest soils. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1106.
- [39] Soares M, Rousk J. Microbial growth and carbon use efficiency in soil: Links to fungal-bacterial dominance, SOC-quality and stoichiometry. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 131: 195-205.
- [40] 王森, 曲来叶, 马克明, 李桂林, 杨小丹. 罕山土壤微生物群落组成对植被类型的响应. *生态学报*, 2014, 34(22): 6640-6654.
- [41] Brassard B W, Chen H Y H, Cavard X, Laganière J, Reich P B, Bergeron Y, Paré D, Yuan Z Y. Tree species diversity increases fine root productivity through increased soil volume filling. *Journal of Ecology*, 2013, 101(1): 201-219.
- [42] 字洪标, 向泽宇, 王根绪, 阿的鲁骥, 王长庭. 青海不同林分土壤微生物群落结构(PLFA). *林业科学*, 2017, 53(3): 21-32.