

DOI: 10.5846/stxb202104221047

刘月, 张利敏, 徐胜楠, 王瑶, 于鸿森, 王思琪. 高通量测序分析冻融期碳源输入方式对土壤线虫群落的影响. 生态学报, 2022, 42(9): 3482-3493.

Liu Y, Zhang L M, Xu S N, Wang Y, Yu H M, Wang S Q. Effects of different carbon input methods on soil nematode community in freeze-thaw period based on high-throughput sequencing. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(9): 3482-3493.

高通量测序分析冻融期碳源输入方式对土壤线虫群落的影响

刘 月, 张利敏*, 徐胜楠, 王 瑶, 于鸿森, 王思琪

哈尔滨师范大学寒区地理环境监测与空间信息服务黑龙江省重点实验室, 哈尔滨师范大学地理科学学院, 哈尔滨 150025

摘要: 植物碳源输入途径变化对土壤生物群落的影响研究是目前学术界关注的热点问题。为探究温带森林生态系统碳源输入方式对土壤线虫群落的影响, 通过 Illumina MiSeq 技术分析了不同碳源输入方式下土壤线虫群落组成和多样性的变化。研究结果显示: 所有处理(凋落物和根系同时输入; 仅根系输入; 仅凋落物输入; 无碳源输入)中共发现土壤线虫 68 属, 其中食细菌线虫的相对丰度最大; 各碳源输入方式中仅凋落物输入处理对线虫群落组成的影响最为明显, 表现为: 与凋落物和根系同时输入处理相比, 仅凋落物输入处理中食细菌线虫的相对丰度明显增加, 食真菌线虫的相对丰度显著降低以及捕食杂食线虫的相对丰度显著增加。从线虫群落的多样性指数角度看, 无碳源输入处理中土壤线虫群落的多样性指数 (H') 下降, 优势度指数 (Dom) 增高; 仅凋落物输入处理中均匀度指数 (J) 最高。从线虫群落的生态指数角度看, 仅凋落物输入处理的线虫群落成熟度指数 (MI) 最高; 各碳源输入处理的分解过程均以细菌分解通道为主。研究表明, 土壤线虫群落受到碳源输入变化的调节, 仅凋落物输入处理比仅根系输入处理对土壤线虫群落的影响更大。无碳源输入处理的物种多样性明显下降, 仅凋落物输入处理的土壤食物网更加稳定。研究结果丰富了森林土壤线虫多样性的研究内容, 并为高通量测序技术在土壤线虫方面的研究提供方法和数据的支持。

关键词: 碳源输入方式; 土壤线虫群落; 高通量测序; 冻融期

Effects of different carbon input methods on soil nematode community in freeze-thaw period based on high-throughput sequencing

LIU Yue, ZHANG Limin*, XU Shengnan, WANG Yao, YU Hongmiao, WANG Siqi

Heilongjiang Province Key Laboratory of Geographical Environment Monitoring and Spatial Information Service in Cold Regions, School of Geographical Science, Harbin Normal University, Harbin 150025, China

Abstract: Research on the influence of change of plant carbon source input pathway on soil biological community is a hot issue in academic circles at present. In order to explore the influence of carbon source input mode on soil nematode community in temperate forest ecosystem, the changes of soil nematode community composition and diversity under different carbon source input modes were analyzed by Illumina MiSeq technology. The results showed that a total of 68 genera of soil nematodes were found in all treatments (Control: CK, Litter removal: NL; Root removal: NR; Litter and root removal: NLR), while the relative abundance of bacterivores was the highest. Among all carbon source input methods, the NR had the most obvious effect on nematode community composition, as shown in the following: compared with control treatment, the relative abundance of bacterivores obviously increased, the relative abundance of fungivores significantly decreased, and

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31670619, 41101048); 黑龙江省留学归国人员科学基金 (LC2018011); 哈尔滨师范大学硕士研究生创新项目 (HSDSSCX2019-01)

收稿日期: 2021-04-22; 网络出版日期: 2022-01-06

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

the relative abundance of omnivores/predators significantly increased in the NR. From the perspective of nematode community diversity, the NLR reduced the Shannon-wiener index (H') and increased the dominance (Dom) of soil nematode community. The evenness index (J) of the NR was the highest. From the perspective of nematode community ecological index, the nematode community maturity index (MI) of the NR was the highest. The bacterial decomposition channel was dominant in the decomposition process of all carbon source input treatments. The results showed that soil nematode community was regulated by the change of carbon source input, and the NR had a greater impact on soil nematode community than the NL. The species diversity of soil with the NLR decreased obviously, and the soil food web of the NR was more stable. The results enrich the research content of forest soil nematode diversity, and provide methods and data support for high-throughput sequencing technology in soil nematode research.

Key Words: different carbon inputs; soil nematode community; high-throughput sequencing; freeze-thaw period

作为土壤碳库的重要组成部分,土壤有机碳(SOC)为土壤生物提供了其生存所需要的养分^[1]。土壤有机碳主要来源于植被地上和地下的输入,自然状态下经过长期的积累,总量巨大,因而短期内难以检测到较明显的变化^[2]。为了更深入探究土壤有机碳对土壤生物以及地下生态系统的影响,Francis Hole 博士早在 20 世纪 50 年代就设置了改变碳源输入方式的实验,即植物残体(凋落物及根系)的去除和添加实验(detritus input and removal treatments, DIRT),由去除凋落物处理、去除根系处理、去除凋落物和根系处理以及加倍添加凋落物处理等组成^[3]。该实验通过控制地表凋落物和根系来探究地上部分植物与土壤生物之间的关系,以便在相对较短的时间内观测到土壤有机碳的变化,进一步对土壤生态系统的影响进行研究。大量的研究表明,植物碳输入方式的变化会对土壤理化性质产生一定的影响。Lajtha 等^[4]在美国安德鲁斯实验森林的针叶林中建立了一项野外控制实验发现,5 年来通过阻隔地上和地下凋落物输入,该地块的土壤表现出土壤有机碳和有机氮逐年下降的现象。Kabzems 等^[5]研究发现,在落叶乔木林中,去除凋落物引起的表层土壤总有机碳的下降比去除植物体本身所产生的效果更明显。此外,植物碳源变化造成的土壤环境的改变又进一步影响着土壤生态系统的生物群落^[6]。然而,目前关于植物碳源输入方式变化的研究多集中于对土壤理化性质及碳循环方面^[7-8],而对如何影响土壤线虫群落却知之甚少^[9]。

线虫是土壤食物网中最丰富的无脊椎动物^[10],具有适应能力强、营养类群丰富、生活周期较短、对环境变化反应迅速等特点,被广泛用于评估土壤微食物网结构功能以及土壤环境质量^[11]。由此本文推测,不同的植物碳源输入方式所引起的土壤环境的改变,也必然会对线虫的群落结构产生影响。因此,本研究通过对土壤线虫的研究来反映有机碳输入对环境的影响。但是,以往线虫群落多样性的研究多采用形态学鉴定的方法,鉴定过程难度大,且易受环境及其他因素干扰,因此需要研究者具备较为专业的知识素养和丰富的经验^[12]。伴随着分子生物方法的发展,高通量测序技术在线虫方面的研究也取得了一定的进展^[13]。该技术克服了传统形态学鉴定的很多不足,大大减少了劳动时间,提高了工作效率,为鉴定土壤线虫提供了一种相对经济有效的方法^[14]。因此,本研究利用 Illumina MiSeq 测序技术来分析土壤线虫群落的组成以及生态多样性特征等。

春季冻融期是高纬度地区特有的时期,期间的冻融作用是该区域土壤生态的影响因素之一^[15]。以往的研究表明冻融作用以及冻融期特有的气温差异会直接或间接对土壤生物产生影响^[16]。但是就目前的研究结果看来,冻融时期的土壤生物群落变化特征还具有一定的不确定性。一方面,林尤伟等^[17]对小兴安岭不同林型的土壤微生物量研究发现,冻融作用使得土壤食物网中微生物繁殖所需的资源基质增加。Zhou 等^[18]研究发现,冻融时期的土壤微生物和根系二者之间的促进和竞争关系,刺激了微生物的繁殖。另一方面,研究还发现,春季冻融期温差变化导致了表层植物根系以及土壤微生物死亡,进而造成微生物分解的速率下降^[19]。冻融时期的土壤线虫对土壤有机碳变化的响应是否具有一个独特的模式,还尚不明确。因此,本文利用 Illumina MiSeq 技术,通过比较冻融期碳源输入的四种处理方式,即凋落物和根系同时输入(CK)、仅根系输入(NL)、仅凋落物输入(NR)以及无碳源输入(NLR)下土壤线虫群落结构,多样性以及生态指数的变化情况,揭示土

壤线虫群落的响应机制,探讨地上、地下碳源输入改变后土壤微食物网的变化趋势,为研究土壤碳循环中土壤动物的重要作用奠定基础。根据以往的研究,本文假设(1)仅凋落物输入处理(NR)导致的地下碳分配变化会减少土壤线虫的食物量,进而降低食细菌线虫和食真菌线虫的相对丰度;(2)与其他限制碳源的输入方式相比,无碳源输入处理(NLR)的土壤线虫的均匀度和多样性必然会降低。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究地设在黑龙江帽儿山森林生态系统观测研究站,地理坐标为 45°24'N, 127°28'E。气候为大陆性温带季风气候,年平均气温 2.8 °C,年平均降水量 723 mm。地带性土壤为暗棕色森林土壤,母岩为花岗岩。植被为天然次生林及人工林^[20]。该地区主要的天然次生林树种有白桦 *Betula platyphylla* Suk.、山杨 *Populus davidiana* Dode、黄菠萝 *Phellodendron amurense* Rupr.、胡桃楸 *Juglans mandshurica* Maxim.、水曲柳 *Fraxinus mandschurica* Rupr.、色木槭 *Acer pictum* Thunb. ex Murray、椴树 *Tilia tuan* Szyszyl. 等,主要的人工林树种有红松 *Pinus koraiensis* Siebold. et Zuc.、落叶松 *Larix gmelinii* (Rupr.) Kuzen. 等。

1.2 样地布设和土壤样品采集

于 2017 年 7 月,在天然次生林中分别设置 4 个面积为 400 m² (20 m×20 m) 的样地,分别在每个样地进行不同碳源输入处理,处理方式包括:凋落物和根系同时输入处理(Control treatment, CK),仅根系输入处理(Litter removal treatment, NL),仅凋落物输入处理(Root removal treatment, NR)以及无碳源输入处理(Litter and root removal treatment, NLR)。具体的处理方式如下:凋落物和根系同时输入处理(CK):不做处理;仅根系输入处理(NL):用尼龙网兜将凋落物与样地土壤隔离,将尼龙网兜上的凋落物每月清理一次,直至网内再无凋落物;仅凋落物输入处理(NR):在样方四周挖深度 1 m 壕沟,切断根系后用塑料膜隔开,以阻止根系进入;无碳源输入处理(NLR):按上述方法进行去除根系处理,并在样方内设置尼龙网兜,按月将凋落物取出。样地之间间隔大于 100 m,以防止相互之间的干扰,每块样地设置 3 个 1.5 m×1.5 m 的样方作为重复处理,共计 12 个样方。

土壤样品采集于 2019 年 3 月,在每个小区选取四个点(位于样方四个角),用内径为 3.5 cm 的土钻采集 0—10 cm 土壤层样品,挑除碎石以及植物根系,充分混合均匀后装入无菌袋中保存。将 12 个土壤样品分别分为两份:一份用于提取土壤线虫 DNA,另一份风干后过 100 目筛,进行土壤理化性质测定。样地土壤理化性质如表 1 示。

表 1 不同碳源输入方式下土壤理化性质(平均值±标准差)

Table 1 Soil physical and chemical properties under different carbon input methods (Mean±SD)

土壤性质 Soil properties	CK	NL	NR	NLR
全氮 TN/(g/kg)	0.96±0.11a	1.05±0.11a	1.04±0.15a	0.88±0.04a
全碳 TC/(g/kg)	11.65±1.73a	12.93±1.28a	12.72±1.54a	10.19±0.43b
硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/(mg/kg)	26.36±18.94a	23.32±16.55a	45.60±43.49a	50.54±19.22a
铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/(mg/kg)	11.88±2.54a	27.55±40.05a	20.56±14.17a	19.48±17.63a
C/N	12.18±0.47a	12.29±0.28a	12.29±0.80a	11.65±0.12a
pH	6.20±0.25a	6.19±0.16a	6.41±0.20a	6.31±0.15a
含水量 SM(%)	40.88±4.58a	41.11±10.01a	36.84±4.34a	37.25±6.10a

CK:凋落物和根系同时输入 Control;NL:仅根系输入 Litter removal;NR:仅凋落物输入 Root removal;NLR:无碳源输入 Litter and root removal;TN:全氮 Total N;TC:全碳 Total C;SM:含水量 Soil moisture;不同小写字母表示不同处理土壤样品理化指标在 0.05 水平下差异显著

1.3 DNA 提取和 PCR 扩增

采用 Power Soil DNA Extraction Kit (MoBio) 对土壤样品进行总 DNA 抽提,利用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 抽提质量。采用两步 PCR 扩增的方法,首先采用特异引物(内侧引物)扩增目的片段,将目的片段进行

胶回收,而后将回收产物作为模板进行二次 PCR 扩增(外侧引物)。第一次 PCR 扩增前设计引物为:F 内侧引物:5'-TTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCT-特异引物-3', F 外侧引物:5'-AATGATACGGCGAC CACCGAGATCTACAC-barcode-TCTTTCCCTACACGACGCTC-3'。将 PCR 扩增产物,于 2% 琼脂糖凝胶电泳切胶回收,回收产物进行二次 PCR 扩增。第二次 PCR 扩增前设计引物为:R 内侧引物:5'-GAGTTCCTTGGCACCCGAGAATTCCA-特异引物-3', R 外侧引物:5'-CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT-barcode-GTGACTGGAGTTTCCTTGGCACCCGAGA-3'。将 PCR 扩增产物,于 2% 琼脂糖凝胶电泳切胶回收,回收产物进行 qPCR 定量。在 Illumina MiSeq 平台进行双端测序(2×300 bp),建库并测序(微基生物有限公司,上海)。

1.4 线虫生态指标

线虫属优势度的划分:相对丰度为 10% 以上者为优势属,1%—10% 为常见属,1% 以下为稀有属。

根据取食习性将土壤线虫划分为食细菌线虫(Bacterivores);食真菌线虫(Fungivores);捕食/杂食线虫(Omnivores/predators);植食线虫(Plant-parasites)四个营养类群^[21]。

(1) Shannon- Wiener 多样性指数(H'): $H' = - \sum_{i=1}^s P_i \ln P_i$; P_i 为第 i 个分类单元中个体占线虫总数比例。

(2) Pielou 均匀性指数(J): $J = H' / \ln S$; S 为鉴定分类单元的数目。

(3) Simpson 优势度指数(Dom): $Dom = \sum P_i^2$; P_i 为第 i 个分类单元中个体所占的比例。

(4) 总成熟度指数(Maturity Index, MI): $MI = \sum c(i) \times p(i)$; $c(i)$ 为第 i 种线虫的生活史策略 $c-p$ 值; $p(i)$ 为第 i 种线虫在线虫总数中所占比重。

(5) 线虫通路比值^[22](NCR): 食细菌线虫与食真菌线虫和食细菌线虫数量之比,即 $NCR = B / (B + F)$; 其中, B 和 F 分别代表食细菌和食真菌的线虫数量。

目前应用高通量测序技术对线虫群落的研究尚不成熟,存在文库不完善等现象^[23]。这导致各碳源输入处理中出现较多未分类线虫属,因而无法对线虫进行营养类群的划分以及生态指标的计算。因此,本研究在划分土壤线虫营养类群,以及计算多样性指数和生态指数时将未分类线虫属排除,即基于已测得的 68 个线虫属进行分类和计算。

1.5 数据处理和分析

利用 SPSS 20.0 软件分析土壤理化性质差异、测序数据统计差异、营养类群的相对丰度以及生态指数差异,采用 one-way ANOVA 进行线虫数据的统计学检验。土壤线虫群落的生态指标使用 R 软件以及 Excel 2010 进行计算。运用 R 软件进行主坐标分析(Principal coordinate analysis, PCoA)以及冗余分析(Redundancy analysis, RDA)。其余图形绘制使用 Origin 2018。

2 结果与分析

通过 Illumina 高通量测序分析得到的不同碳源输入方式下土壤中有效序列总数为 493186 条,平均每个样品的有效序列为 41099 条。优化序列数如表 2 所示。覆盖率指数展示了研究的土壤样品文库的覆盖程度,测序的序列被覆盖到的越全面,数值则越高,本试验覆盖率能够反映各土壤样本线虫群落的真实情况^[24](表 2)。

2.1 碳源输入方式对土壤线虫群落组成的影响

2.1.1 OTU 组成分析

聚类后注释得到 CK 均值为 872 个 OTU, NL 中均值为 1032 个 OTU, NR 中均值为 799 个 OTU, NLR 中均值为 1095 个 OTU(表 2)。本文中不同碳源输入方式下土壤线虫群落 OTU 韦恩图结果(图 1)表明 CK 中独有的 OTU 占总 OTU 的 16.80%(638), NL 独有的 OTU 占 20.30%(771), NR 独有的 OTU 占 14.69%(558), NLR 独有的 OTU 占 22.59%(858)。此外, CK 与 NL 单独共有的 OTU 数量最多,为 61, CK 与 NR 单独共有的 OTU

数量最少,为 26,CK 与 NLR 共有的 OTU 数量为 31。CK,NL,NR,NLR 不同碳输入下土壤中共有的线虫 OTU 数量为 60。

表 2 不同碳源输入方式下土壤线虫测序数据统计(平均值±标准差)

Table 2 Statistics of soil nematode sequencing data under different carbon input methods(Mean±SD)

处理 Treatments	有效序列数 Available sequence number	优化序列数 Optimized sequence number	覆盖率 Coverage ratio	OTU 数目 OTU number
CK	42410±3758	2276±1107	90%	872
NL	41162±2842	3173±1307	90%	1032
NR	39044±9114	2546±1187	90%	799
NLR	41778±5236	3749±1418	92%	1095

表中数据为平均值±标准差

2.1.2 基于属水平不同碳源输入方式下土壤线虫相对丰度

为了解碳源输入方式对土壤线虫群落结构的影响,对 OTU 代表序列进行物种检测和注释。在排除各碳源输入处理中未注释 OTU(Unclassified)后,得到已注释的 OTU 被识别为 2 纲,13 目,54 科,68 属,104 种。基于已注释线虫属水平的相对丰度进行分析,各碳源输入处理中的优势属和常见属的种类总共为 28(图 2),相对丰度低于 1%的稀有属的种类为 40(表 3)。CK 中土壤样品中常见属有异色矛属(*Achromadora*),似双胃属(*Diplogasteroides*),*Paralamyctes*,杆咽属(*Rhabdolaimus*)等。NL 中土壤样品中优势属为棱咽属(*Prismatolaimus*),常见属为杆咽属(*Rhabdolaimus*),垫咽属(*Tylencholaimus*),异色矛属(*Achromadora*)等。NR 中土壤样品中优势属为杆咽属(*Rhabdolaimus*),常见属为锉齿属(*Mylonchulus*),异色矛属(*Achromadora*),微矛属(*Microdorylaimus*)等。NLR 中土壤样品中常见属为三裂体属(*Trischistoma*),小杆属(*Rhabditis*),棱咽属(*Prismatolaimus*),矛线属(*Dorylaimus*)等。不同碳源输入处理下的稀有线虫属如表 3 所示,其中真单宫属(*Eumonhystera*),异头叶属(*Heterocephalobus*),巴氏属(*Bastiania*),丝尾垫刃属(*Filenchus*),盘旋属(*Rotylenchus*)以及无孔小咽属(*Aporcelaimellus*)分布于各碳源输入处理中。

从食细菌线虫的组成来看(图 2),NR 中杆咽属(*Rhabdolaimus*)和无咽属(*Alaimus*)的相对丰度大大提升,分别是 CK 的 2.07 倍和 2.34 倍。NL 中食细菌线虫棱咽属(*Prismatolaimus*)的相对丰度远大于 CK 和 NR,是 CK 的 3.69 倍,以及 NR 的 4.57 倍。从食真菌线虫的组成来看,NL 中食真菌线虫垫咽属(*Tylencholaimus*)的相对丰度大大增加。从捕食杂食线虫的组成来看,NR 中的锉齿属(*Mylonchulus*)和微矛属(*Microdorylaimus*)远远大于其他碳源输入方式的样地。此外,在 NLR 中,三裂体属(*Trischistoma*)的相对丰度大大增加。

2.1.3 碳源输入方式对土壤线虫营养类群的影响

由图 3 可知,不同碳源输入方式下均为食细菌线虫的比例最大,最高能达到 38.30%,是土壤线虫的优势营养类群。和 CK 相比,NR 中食细菌线虫的相对丰度有所上升($P>0.05$),而食真菌线虫则呈现出与食细菌类线虫相反的趋势($P<0.05$)。捕食杂食线虫在 NL 中相对丰度变化不明显($P>0.05$),而在 NR 中相对丰度均

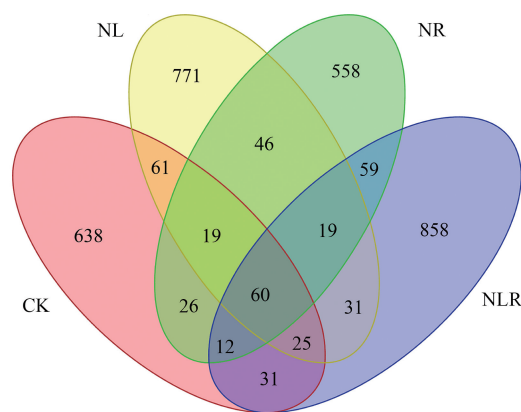


图 1 基于 OTU 丰度的不同碳源输入方式下土壤线虫群落维恩图

Fig.1 Venn diagram of soil nematode community under different carbon source input methods based on OTU abundance

CK:凋落物和根系同时输入 Control; NL:仅根系输入 Litter removal;NR:仅凋落物输入 Root removal; NLR:无碳源输入 Litter and root removal;图中数字分别代表不同碳源输入方式下独有以及共有 OTU 的数量

大幅度上升,分别较 CK 增加了 12.35% ($P<0.05$)。此外,NR 降低了植食线虫的相对丰度 ($P>0.05$)。

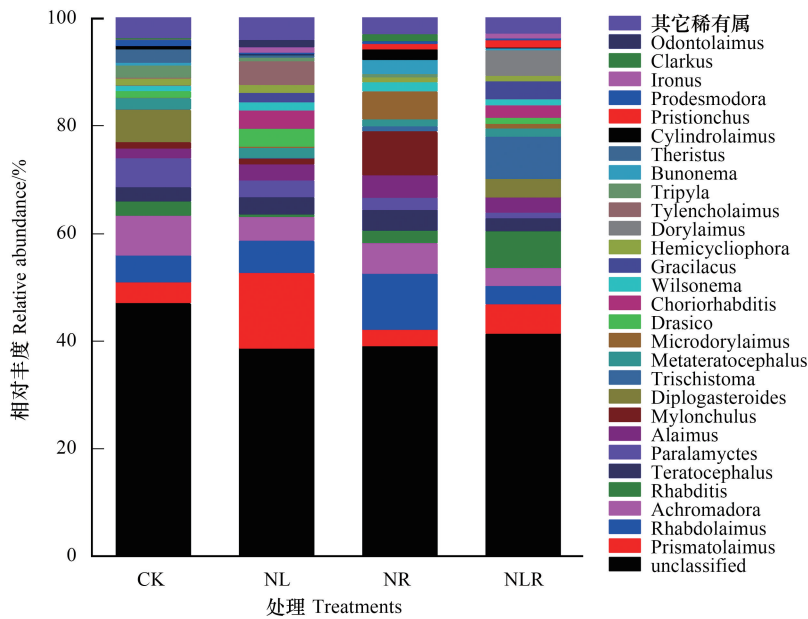


图 2 不同碳源输入方式下土壤线虫群落优势属和常见属的相对丰度

Fig.2 Relative abundance of dominant and common genus in soil nematode communities under different carbon input methods

表 3 不同碳源输入方式下土壤线虫群落稀有属组成

Table 3 Composition of rare genus in soil nematode community under different carbon input methods					
属名 Genus	功能类群 Functional group	优势度 Dominance			
		CK	NL	NR	NLR
明杆咽属 <i>Rhabditophanes</i>	Ba1	—	—	+	+
盆咽属 <i>Panagrolaimus</i>	Ba1	+	—	—	—
<i>Oscheius</i>	Ba1	+	+	—	—
真单宫属 <i>Eumonhystera</i>	Ba2	+	+	+	+
哈利头属 <i>Haliplectus</i>	Ba2	—	+	+	—
异头叶属 <i>Heterocephalobus</i>	Ba2	+	+	+	+
丽突属 <i>Acrobeles</i>	Ba2	—	—	+	—
斯氏属 <i>Steinernema</i>	Ba2	+	+	—	—
<i>Drilocephalobus</i>	Ba2	—	+	—	+
单宫属 <i>Monhystera</i>	Ba2	+	—	—	—
拟绕线属 <i>Anaplectus</i>	Ba2	—	+	+	+
<i>Zeldia</i>	Ba2	—	—	—	+
圆顶属 <i>Domorganus</i>	Ba3	+	—	—	—
巴氏属 <i>Bastiania</i>	Ba3	+	+	+	+
伪垫刃属 <i>Nothotylenchus</i>	Fu2	+	—	—	—
丝尾垫刃属 <i>Filenchus</i>	Fu2	+	+	+	+
真滑刃属 <i>Aphelenchus</i>	Fu2	+	—	+	—
滑刃属 <i>Aphelenchoides</i>	Fu2	+	—	+	+
<i>Aprutides</i>	Fu2	—	—	—	+
巨宫属 <i>Tylolaimophorus</i>	Fu3	+	—	—	+
短矛属 <i>Doryllium</i>	Fu4	+	+	—	—
细齿属 <i>Leptonchus</i>	Fu4	+	—	+	+

续表

属名 Genus	功能类群 Functional group	优势度 Dominance			
		CK	NL	NR	NLR
突腔唇属 <i>Ecphyadophora</i>	PP2	+	-	-	-
头叶属 <i>Cephalenchus</i>	PP2	-	+	-	+
茎属 <i>Ditylenchus</i>	PP2	-	-	-	+
垫刃属 <i>Tylenchus</i>	PP2	+	-	-	+
<i>Irantylenchus</i>	PP2	+	-	-	+
<i>Sakia</i>	PP2	-	+	-	-
<i>Schistonchus</i>	PP2	+	-	-	-
盘旋属 <i>Rotylenchus</i>	PP3	+	+	+	+
沟环属 <i>Ogma</i>	PP3	-	+	-	+
那格尔属 <i>Nagelus</i>	PP3	-	-	+	-
默林属 <i>Merlinius</i>	PP3	-	-	-	+
矛刺属 <i>Trichodorus</i>	PP4	-	+	-	-
库曼属 <i>Coomansus</i>	OP4	-	-	+	-
真矛线属 <i>Eudorylaimus</i>	OP4	+	+	-	+
<i>Allodorylaimus</i>	OP4	-	+	-	+
<i>Paractinolaimus</i>	OP5	-	+	-	-
前矛线属 <i>Prodorylaimus</i>	OP5	-	-	-	+
无孔小咽属 <i>Aporcelaimellus</i>	OP5	+	+	+	+

Ba:食细菌线虫 Bacterivores;Fu:食真菌线虫 Fungivores;OP:捕食/杂食线虫 Omnivores/predators;PP:植食线虫 Plant-parasites;+++ :个体数量占总体数量 10%以上的类群;++ :个体数量占总体数量 1%—10%的类群;+ :个体数量占总体数量 1%以下的群;- :未出现的类群

2.2 碳源输入方式对土壤线虫生态指数的影响

不同碳源输入方式下土壤线虫群落生态学指数分析结果如表 4 所示,多样性指数(H')表现为 NR 中最高,NLR 中最低,表明去除凋落物和根系后土壤线虫群落的多样性降低,生态环境变差。NR 中均匀度指数(J)最高,该群落较为稳定。优势度指数(Dom)为在 NLR 中最高。成熟度指数(MI)反映的是土壤资源的多样化^[25],本文中线虫成熟度指数(MI)表现为 NR 最高,这说明将根系去除后,土壤资源的质量和多样性反而升高。碳源输入方式的变化并没有改变土壤中有机质的分解途径,在各处理中,线虫通路比值(NCR)均大于 0.5,表明土壤食物网仍是为以细菌为基础的分解通道占优势。

2.3 土壤线虫 β 多样性分析

主坐标分析(Principal Coordinates analysis, PCoA)用于衡量不同碳源输入方式下土壤线虫群落物种组成的相似度,进而明确各样本之间在群落物种结构上的差异性。ANOSIM(Analysis of similarities)分析结果表明,各样地之间土壤的 OTU 组成之间存在极显著差异($R=0.296,P=0.006$)。

对各样地数据进行主坐标分析(PCoA),如图 4 所示,PC1 和 PC2 分别解释变量方差的 13.23% 和 12.38%,两者累计贡献率达 25.38%。PC1 将 NL 中的土壤线虫群落与 NR 明显区分开。通过分析各样本之间的距离来推测相似和差异情况,其距离越远,说明线虫群落差异越大。总体而言,CK,NL,NR 样地的土壤线

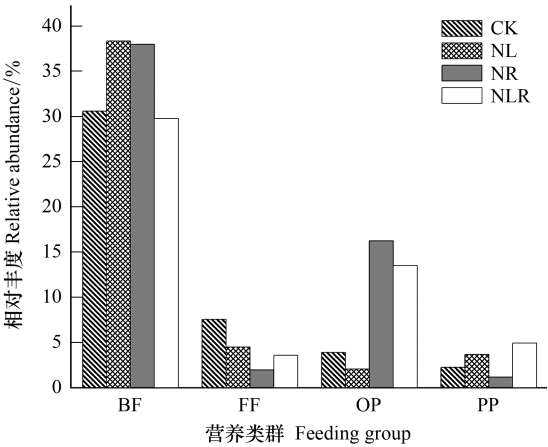


图 3 不同碳源输入方式下各营养类型的线虫相对丰度

Fig. 3 Relative abundance of nematodes in different nutrient types under different carbon input methods

BF:食细菌线虫 Bacterivores;FF:食真菌线虫 Fungivores;OP:捕食/杂食线虫 Omnivores/Predators;PP:植食线虫 Plant-parasites

虫群落各样本组内聚集明显,且组间距离较远,各碳源输入处理之间土壤线虫群落结构发生了变化。

表 4 不同碳源输入方式下土壤线虫生态指数

Table 4 Ecological index of soil nematodes under different carbon source input methods

处理 Treatments	H'	J	Dom	MI	NCR
CK	1.65±0.52a	0.49±0.13a	0.03±0.02a	1.27±0.38a	0.62±0.16a
NL	1.80±0.18a	0.54±0.06a	0.05±0.02a	1.36±0.49a	0.71±0.11a
NR	1.84±0.67a	0.57±0.02a	0.04±0.02a	1.67±0.38a	0.59±0.11a
NLR	1.61±0.94a	0.49±0.02a	0.06±0.02a	1.43±0.34a	0.67±0.24a

H' :多样性指数;Shannon-wiener index; J :均匀度 Evenness;Dom:Simpson 指数 Dominance; MI :自由生活线虫成熟度指数 Free-living nematode maturity index;NCR:线虫通路比值 Nematode Channel Ratio;表中数据为平均值±标准差;不同小写字母表示不同处理土壤样品理化指标在 0.05 水平下差异显著

2.4 土壤线虫群落与土壤理化性质之间的关系

土壤提供了线虫生长繁殖的微环境,而不同碳源输入方式使得土壤理化性质在一定程度上发生改变,这也进一步会对土壤线虫群落产生影响。为探究环境变量与线虫群落组成之间的关系,本文基于常见线虫属与土壤环境因子进行冗余分析(RDA)(图5)。第一、二轴解释的变量为 44.86%以及 29.30%。在图 3 中可以观察到 TC、TN 与异色矛属(*Achromadora*)以及杆咽属(*Rhabdolaimus*)呈显著正相关($P<0.05$)。pH 和三裂体属(*Trischistoma*)呈正相关($P>0.05$),和棱咽属(*Prismatolaimus*)呈负相关($P>0.05$)。SM 和三裂体属(*Trischistoma*),皮杆亚属(*Choriorhabditis*)呈正相关($P>0.05$)。铵态氮与棱咽属(*Prismatolaimus*)呈正相关($P>0.05$),与三裂体属(*Trischistoma*)呈显著负相关($P<0.05$)。硝态氮与似双胃属(*Diplogasteroides*),锉齿属(*Mylonchulus*)呈正相关($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 碳源输入方式对土壤线虫群落结构的影响

不同碳源输入方式通过控制输入碳源的数量和质量来改变土壤环境,间接影响土壤线虫群落组成与结构。本研究中,仅凋落物输入处理使得属于食细菌线虫的杆咽属(*Rhabdolaimus*)和无咽属(*Alaimus*)的相对丰度的大幅增加(图2)。此外,TN 与杆咽属(*Rhabdolaimus*)呈显著正相关(图5)。李成一等^[26]研究指出,在一定的阈值范围内,氮含量的提升对细菌生物量有直接的积极作用。杆咽属(*Rhabdolaimus*)等在仅凋落物输入处理中相对丰度大幅增加,原因可能是氮含量增加所致。去除根系使得植物不能吸收土壤中的有效氮^[27],导致土壤中一部分氮被保留。同时,根系去除后由于易变性碳源减少,使得微生物量下降,释放了一部分被固定的氮,进而导致土壤中全氮量增加^[28](表1)。而氮元素的提高增加了细菌生物量,进而刺激了该线虫大量繁殖。由此可见,TN 是影响线虫群落组成的重要因子。本研究还发现,相比于凋落物和根系同时输入以及仅凋落物输入处理,仅根系输入处理中属于食细菌线虫的棱咽属(*Prismatolaimus*)比例大幅提升(图2),成为该样地中的优势属,同时其与土壤 pH 值呈负相关(图5)。Li 等^[29]研究指出,土壤 pH 值越高,食细菌线虫的比例反而越低。土壤 pH 值由土壤中阴阳离子决定,植物生长时,土壤中的阳离子被吸收,最后以落叶的形式重返土壤。Fujii 等^[30]认为,将凋落物移除后,没能使阳离子进入地下,造成阴阳离子失衡,土壤 pH 值降低。因

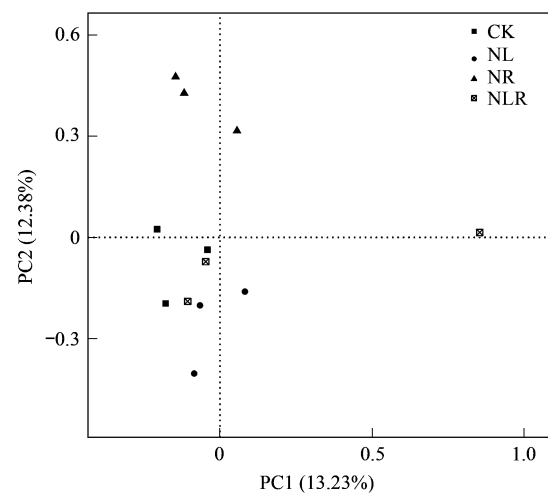


图 4 不同碳源输入方式下土壤 OTU 的主成分分析

Fig.4 Principal component analysis of soil OTU under different carbon source input methods

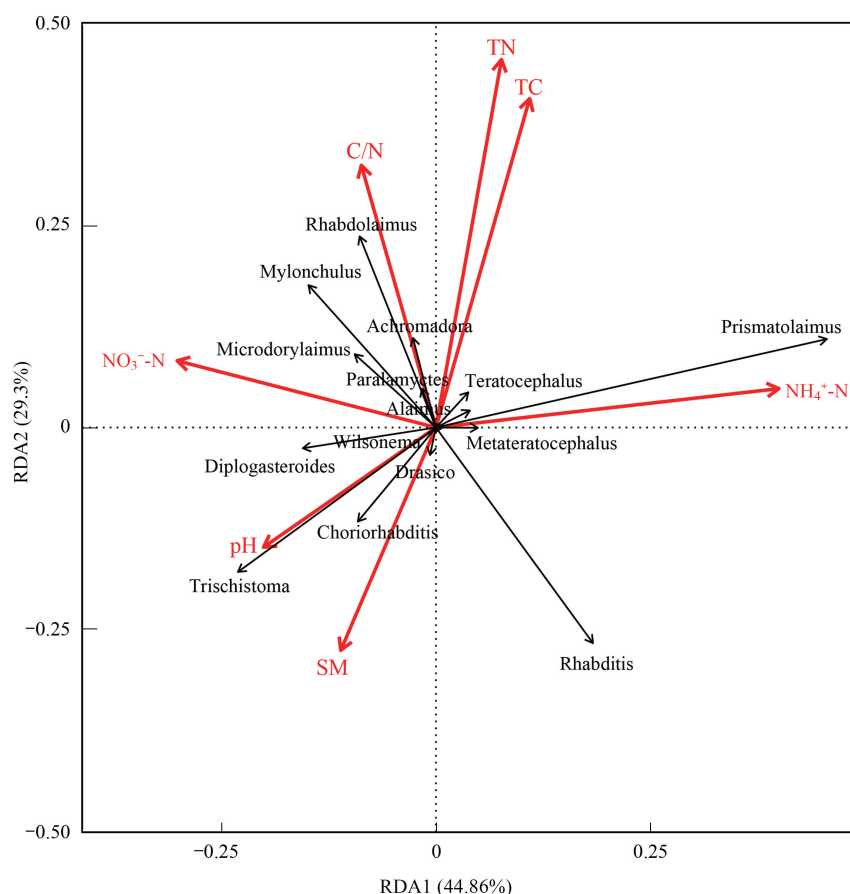


图5 常见线虫属与土壤环境因子冗余分析

Fig.5 Redundancy analysis of common nematodes and soil environmental factors

TN: 全氮 Total N; TC: 全碳 Total C; SM: 含水量 Soil moisture

此,本研究推测棱咽属(*Prismatolaimus*)相对丰度的增加可能是仅根系输入处理将凋落物移除引起的土壤 pH 值下降所致。

进一步对土壤线虫群落的营养类群进行分析。研究表明,不同碳源输入处理下 CK;NL;NR;NLR)的食细菌线虫的相对丰度在各营养类群中均占绝对优势(图3)。焦向丽等^[31]对东北地区不同林型土壤线虫群落研究表明,天然次生林中食细菌线虫数量最大,且组成最丰富,这与本文研究结果一致。根系释放的分泌物如碳水化合物、氨基酸等容易降解,主要在细菌能量通道中代谢,更多的刺激细菌和以细菌为食的线虫种群^[29]。因此,本研究推测在仅凋落物输入处理中,将根系去除会使得食细菌线虫的相对丰度降低。然而,与假设相反,本研究发现去除根系后食细菌线虫的相对丰度却大大增加(图3)。根系分泌物等虽然为土壤动物群落提供了碳源,但根系对土壤养分的吸收也会与土壤细菌争夺养分^[32]。由此可见,虽然去除根系阻止了光合产物从地上植物进入土壤,但是由于减少了土壤对植物所需碳源的输出,益于土壤中碳源的保留,反而丰富了食细菌线虫的食物来源。与食细菌线虫的变化不同,仅凋落物输入处理显著降低了食真菌线虫的相对丰度(图3)。Subke 等^[33]认为,去除根系抑制了树木和土壤之间的能量联系,并对菌根真菌产生负面影响,进而导致了真菌生物量的下降。因而,本研究推测将根系去除后,食真菌线虫的比例显著降低可能和菌根真菌的减少有关。此外,虽然仅根系输入处理在一定程度上影响着线虫群落营养结构,但是和仅凋落物输入处理相比,变化程度较小,且均不显著,这表明地下碳输入对土壤线虫的影响可能比地上碳输入更为重要^[34]。Keith 等^[35]指出,根的输入可能是形成土壤食物网中营养成分的核心,地下碳源输入对土壤线虫的结构和复杂性的影响远远大于凋落物。另一方面,根际的基质容易降解,而凋落物的分解更加缓慢^[36],而本实验周期较短,可

能是导致变化不显著的另外一个原因。

3.2 碳源输入方式对土壤线虫群落生态指数的影响

物种多样性是维持生态系统正常功能的前提,土壤动物的多样性体现着土壤微食物网的复杂性和健康程度。本研究发现,与其他碳源输入方式相比,无碳源输入处理的多样性指数(H')最低,且优势度指数(Dom)最高(表4),说明去除凋落物和根系使得土壤线虫群落的多样性下降,物种组成比例更加不均衡,这与本文的假设相一致。食物资源是影响土壤线虫群落多样性的重要因素之一^[37]。在森林生态系统中,植物活根将碳源转移到根际土壤^[38],植物凋落物也是土壤碳的主要来源^[39]。与凋落物和根系同时输入相比,无碳源输入处理显著降低了土壤中的全碳(TC)的含量(表1),这也改变了土壤微生物的食物数量和质量^[40],以微生物为食的线虫必然也会因食物减少而受到影响。另外,去除凋落物后,由于不能抵挡紫外线的照射,也会影响土壤线虫的生长和繁殖^[35]。因此,食物资源得减少以及庇护所的缺失可能是土壤线虫群落多样性下降的主要原因。帽儿山地区属温带大陆性季风气候,具有明显的季节变化。该地春季土壤的反复冻融是常见的温度变化现象,冻融作用通过改变土壤结构和土壤水热状况间接影响土壤生物的结构和活性^[41]。将本次冻融期线虫群落生态指数数据和之前7月份生长期的土壤样品的数据相比较(数据未发表),发现3月份冻融期的多样性指数(H')明显低于生长期。生长期水分和热量条件较好,更利于微生物分解有机质,并且土壤生物数量和种类较多,线虫食物资源也更为丰富^[42]。而反复冻融破坏土壤团聚体,导致土壤中的微生物死亡,减少了微生物的多样性^[43],造成了土壤线虫的食物来源的数量和种类减少,进而降低了土壤线虫的多样性。此外,三月份冻融期的线虫群落生态指标是运用高通量测序数据计算得到的,而生长期的生态指数是通过原始的形态学鉴定数据计算得到的。因而,数据获取方式的差异也可能是造成二者季节间差异的原因,这也有待于进一步探索和研究。

MI 指数越低,表明土壤受到的干扰越严重, MI 指数越高,表明土壤养分越富集,土壤环境越稳定^[44]。有研究指出^[35]与仅凋落物输入相比,根的存在可能会进一步改善土壤食物网结构,这和本研究结果相反。本研究发现,仅凋落物输入处理的线虫成熟度指数(MI)最高(表4)。一般认为,捕食杂食线虫是决定食物网复杂性的关键类群。本研究发现在仅凋落物输入处理中,捕食杂食线虫的相对丰度最高,这可能是由于将根系去除后,植物对营养物质摄取的减少^[28],保留了土壤中的碳氮含量,增加了线虫所需的食物质量,进而提高了土壤中线虫群落的多样性(表4)。而丰富的营养物质和多样的物种为捕食杂食线虫提供了较好的生存环境,益于其生存和繁殖,进而提高了线虫成熟度指数(MI)。较高的线虫成熟度指数(MI)也反映出NR中土壤食物网的营养层次增加,食物网更加稳定。各处理间线虫通路比值(NCR)均大于0.5(表4),这表明土壤食物网的分解通道仍是以细菌占优势,营养转化效率较高,分解代谢过程均较快。有研究指出,细菌与其他微生物相比,对抗土壤冻融循环的抵抗能力更强^[45],推测这可能是冻融期细菌途径分解土壤有机物质更加占优势的重要原因之一。

本研究中,线虫群落生态指标的结果均是将未分类线虫属排除后计算得到的。基于已测得的68个线虫属进行生态指标计算,用以反映已确定线虫群落对不同碳源输入处理的响应。但是,数据中大量的未分类线虫属必然会在一定程度上影响生态指标的结果,这也是目前高通量测序技术应用于线虫群落研究存在的缺点,是今后进一步改正和发展的方向。本文为高通量测序技术在线虫群落方面的研究提供了数据支持。此外,本研究可以检测到不同碳源输入处理引起的土壤线虫群落组成以及群落生态指标的变化,但由于实验周期较短,部分变化不是很显著。在森林生态系统中,特别是较少受人类干扰的森林生态系统,土壤食物资源丰富,因此短时间内碳源输入方式变化对土壤微食物网影响相对较小^[46]。这也需要今后继续进一步开展连续的动态的野外控制实验验证其间的内在联系。

4 结论

不同碳源输入处理之间的土壤线虫群落结构差异显著,说明碳源输入变化调节着土壤线虫群落。同时,

仅凋落物输入处理比仅根系输入处理对土壤线虫群落的影响更明显。和本文假设一致的是,仅凋落物输入处理降低了食真菌线虫的相对丰度。无碳源输入处理使得土壤线虫的群落多样性下降,生态环境质量变差。这也说明重视森林生态系统中植被保护的重要性。同时,仅凋落物输入处理的捕食杂食线虫相对丰度最大,线虫成熟度指数(*MI*)最高。不同碳源输入处理下土壤食物网有机质分解均以细菌降解途径占主导。由于实验周期较短,部分碳源输入方式处理之间的实验结果差异不明显,因此还需要长期的观测,进一步深入探讨土壤环境变化与土壤线虫的适应过程。本研究利用的高通量测序技术可以对线虫进行快速评估,在方法上对线虫群落的研究提供了有力支持。但是,目前该技术存在的弊端,如序列注释的数据库不够完善,以及引物位点的序列不匹配等,亟待解决。尽管高通量测序技术存在局限性,但是由于它具有比形态分析提供更高的分类分辨率的潜力,必然有助于加快土壤线虫群落的研究进程。

参考文献 (References):

- [1] García-Palacios P, Maestre F T, Kattge J, Wall D H. Climate and litter quality differently modulate the effects of soil fauna on litter decomposition across biomes. *Ecology Letters*, 2013, 16(8): 1045-1053.
- [2] Zhao J, Wang X L, Shao Y H, Xu G L, Fu S L. Effects of vegetation removal on soil properties and decomposer organisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(5): 954-960.
- [3] 王清奎. 碳输入方式对森林土壤碳库和碳循环的影响研究进展. *应用生态学报*, 2011, 22(4): 1075-1081.
- [4] Lajtha K, Crow S E, Yano Y, Kaushal S S, Sulzman E, Sollins P, Spears J D H. Detrital controls on soil solution N and dissolved organic matter in soils: a field experiment. *Biogeochemistry*, 2005, 76(2): 261-281.
- [5] Kabzems R, Haeussler S. Soil properties, aspen, and white spruce responses 5 years after organic matter removal and compaction treatments. *Canadian Journal of Forest Research*, 2005, 35(8): 2045-2055.
- [6] Brant J B, Myrold D D, Sulzman E W. Root controls on soil microbial community structure in forest soils. *Oecologia*, 2006, 148(4): 650-659.
- [7] 邵康, 贡璐, 何学敏, 陈文静, 张雪妮, 朱海强. 改变碳输入对新疆天山雪岭云杉林土壤呼吸的短期影响. *环境科学*, 2020, 41(8): 3804-3810.
- [8] 林宝平, 何宗明, 郜士垒, 桑昌鹏, 温秀萍, 林宇, 黄志群, 林思祖. 去除根系和凋落物对滨海沙地 3 种防护林土壤碳氮库的短期影响. *生态学报*, 2017, 37(12): 4061-4071.
- [9] Kerfahi D, Park J, Tripathi B M, Singh D, Porazinska D L, Moroenyane I, Adams J M. Molecular methods reveal controls on nematode community structure and unexpectedly high nematode diversity, in Svalbard high Arctic tundra. *Polar Biology*, 2017, 40(4): 765-776.
- [10] 张薇, 宋玉芳, 孙铁珩, 宋雪英, 周启星. 土壤线虫对环境污染的指示作用. *应用生态学报*, 2004, 15(10): 1973-1978.
- [11] Nielsen U N, Ayres E, Wall D H, Li G, Bardgett R D, Wu T H, Garey J R. Global-scale patterns of assemblage structure of soil nematodes in relation to climate and ecosystem properties. *Global Ecology and Biogeography*, 2014, 23(9): 968-978.
- [12] 岳桂东, 高强, 罗龙海, 王军一, 许姣卉, 尹焱. 高通量测序技术在动植物研究领域中的应用. *中国科学: 生命科学*, 2012, 42(2): 107-124.
- [13] Griffiths B S, De Groot G A, Laros I, Stone D, Geisen S. The need for standardisation; exemplified by a description of the diversity, community structure and ecological indices of soil nematodes. *Ecological Indicators*, 2018, 87: 43-46.
- [14] 薛蓓, 侯磊, 薛会英. 基于高通量测序分析西藏北部高寒草甸不同深度土壤线虫群落分布特征. *生态学报*, 2019, 39(11): 4088-4095.
- [15] 赵媛, 周旺明, 王守乐, 周莉, 于大炮, 代力民. 冻融对温带森林土壤碳、氮矿化作用的影响. *生态学杂志*, 2017, 36(6): 1548-1554.
- [16] 王娇月, 宋长春, 王宪伟, 王丽丽. 冻融作用对土壤有机碳库及微生物的影响研究进展. *冰川冻土*, 2011, 33(2): 442-452.
- [17] 林允伟, 金光泽. 冻融期去根处理对小兴安岭 6 种林型土壤微生物量的影响. *生态学报*, 2016, 36(19): 6159-6169.
- [18] Zhou W M, Chen H, Zhou L, Lewis B J, Ye Y J, Tian J, Li G W, Dai L M. Effect of freezing-thawing on nitrogen mineralization in vegetation soils of four landscape zones of Changbai Mountain. *Annals of Forest Science*, 2011, 68(5): 943-951.
- [19] Urakawa R, Shibata H, Kuroiwa M, Inagaki Y, Tateno R, Hishi T, Fukuzawa K, Hirai K, Toda H, Oyanagi N, Nakata M, Nakanishi A, Fukushima K, Enoki T, Suwa Y. Effects of freeze - thaw cycles resulting from winter climate change on soil nitrogen cycling in ten temperate forest ecosystems throughout the Japanese archipelago. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 74: 82-94.
- [20] 朱纪元, 李景科, 高梅香, 胡媛媛, 张雪萍. 帽儿山红松人工林鞘翅目成虫群落小尺度空间异质性变化特征. *生态学报*, 2017, 37(6): 1975-1986.
- [21] Yeates G W. Impact of historical changes in land use on the soil fauna. *New Zealand Journal of Ecology*, 1991, 15(1): 99-106.
- [22] 刘满强, 黄菁华, 陈小云, 王峰, 葛成, 苏昱, 邵波, 汤英, 李辉信, 胡锋. 地上部植食者褐飞虱对不同水稻品种土壤线虫群落的影响. *生*

- 物多样性, 2009, 17(5): 431-439.
- [23] Du X F, Li Y B, Han X, Ahmad W, Li Q. Using high-throughput sequencing quantitatively to investigate soil nematode community composition in a steppe-forest ecotone. *Applied Soil Ecology*, 2020, 152: 103562.
- [24] 周柳婷, 李建鹏, 赵艳琳, 罗扬, 白莹, 陈军, 吴则焰, 林文雄. 基于高通量测序的连栽木麻黄根际土壤细菌群落变化研究. *生态学报*, 2020, 40(8): 2670-2679.
- [25] 张晓珂, 梁文举, 李琪. 长白山森林土壤线虫——形态分类与分布格局. 北京: 中国农业出版社, 2013: 138.
- [26] 李成一, 李希来, 杨元武, 李宏林, 梁德飞. 氮添加对不同坡度退化高寒草甸土壤细菌多样性的影响. *草业学报*, 2020, 29(12): 161-170.
- [27] 章宪, 范跃新, 罗茜, 谢锦升, 孙杰. 凋落物和根系处理对杉木人工林土壤氮素的影响. *亚热带资源与环境学报*, 2014, 9(2): 39-44.
- [28] 梁艺凡, 万晓华, 桑昌鹏, 王民煌, 林宇, 黄志群. 滨海防护林土壤氮组分对凋落物和根系去除的响应. *森林与环境学报*, 2019, 39(2): 127-134.
- [29] Li S P, Song M, Jing S S. Effects of different carbon inputs on soil nematode abundance and community composition. *Applied Soil Ecology*, 2021, 163: 103915.
- [30] Fujii S, Saitoh S, Takeda H. Effects of rhizospheres on the community composition of Collembola in a temperate forest. *Applied Soil Ecology*, 2014, 83: 109-115.
- [31] 焦向丽, 朱教君, 张金鑫, 闫巧玲, 杨凯. 干扰对东北次生林生态系统土壤线虫群落的影响. *生态学杂志*, 2008, 27(12): 2129-2135.
- [32] Wardle D A, Yeates G W, Barker G M, Bonner K I. The influence of plant litter diversity on decomposer abundance and diversity. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(5): 1052-1062.
- [33] Subke J A, Hahn V, Battipaglia G, Linder S, Buchmann N, Cotrufo M F. Feedback interactions between needle litter decomposition and rhizosphere activity. *Oecologia*, 2004, 139(4): 551-559.
- [34] Wang Q K, He T X, Wang S L, Liu L. Carbon input manipulation affects soil respiration and microbial community composition in a subtropical coniferous forest. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2013, 178-179: 152-160.
- [35] Keith A M, Brooker R W, Osler G H R, Chapman S J, Burslem D F R P, Van Der Wal R. Strong impacts of belowground tree inputs on soil nematode trophic composition. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(6): 1060-1065.
- [36] Chen Y P, Cao J B, He X X, Liu T, Shao Y H, Zhang C L, Zhou Q Q, Li F, Mao P, Tao L B, Liu Z F, Lin Y B, Zhou L X, Zhang W X, Fu S L. Plant leaf litter plays a more important role than roots in maintaining earthworm communities in subtropical plantations. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 144: 107777.
- [37] 王雪峰, 毛之夏, 徐济贵, 常亮, 吴东辉. 根际效应对大豆田土壤线虫群落组成及多样性的影响. *生态学报*, 2016, 36(16): 5256-5262.
- [38] Li Y J, Yang X D, Zou X M, Wu J H. Response of soil nematode communities to tree girdling in a subtropical evergreen broad-leaved forest of southwest China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(5): 877-882.
- [39] 桑昌鹏, 万晓华, 余再鹏, 王民煌, 林宇, 黄志群. 凋落物和根系去除对滨海沙地土壤微生物群落组成和功能的影响. *应用生态学报*, 2017, 28(4): 1184-1196.
- [40] Knox M A, Wall D H, Virginia R A, Vandegehuchte M L, Gil I S, Adams B J. Impact of diurnal freeze - thaw cycles on the soil nematode *Scottinema lindsayae* in Taylor Valley, Antarctica. *Polar Biology*, 2016, 39(4): 583-592.
- [41] 吕欣欣, 孙海岩, 汪景宽, 丁雪丽. 冻融交替对土壤氮素转化及相关微生物学特性的影响. *土壤通报*, 2016, 47(5): 1265-1272.
- [42] 王瑶, 张利敏, 徐胜楠, 于鸿森, 刘月. 帽儿山 3 种森林生态系统土壤动物与土壤呼吸及其相互关系研究. *生态学报*, 2021, 41(1): 172-183.
- [43] Yu H M, Zhang L M, Wang Y, Xu S N, Liu Y, Wang S Q. Response of soil bacterial communities to organic carbon input under soil freeze-thaw in forest ecosystems. *European Journal of Soil Biology*, 2021, 105: 103333.
- [44] 牟文雅, 贾艺凡, 陈小云, 刘满强, 周可新, 李俊生, 陈法军. 玉米秸秆还田对土壤线虫数量动态与群落结构的影响. *生态学报*, 2017, 37(3): 877-886.
- [45] 秦璐, 吕光辉, 何学敏. 艾比湖地区冻融作用对土壤微生物数量和群落结构的影响. *冰川冻土*, 2013, 35(6): 1590-1599.
- [46] Leff J W, Wieder W R, Taylor P G, Townsend A R, Nemergut D R, Grandy A S, Cleveland C C. Experimental litterfall manipulation drives large and rapid changes in soil carbon cycling in a wet tropical forest. *Global Change Biology*, 2012, 18(9): 2969-2979.