#### DOI: 10.5846/stxb202111153204

王旭,张旭东,姚增旺,吴海龙,舒琪,李屹峰,高升华.采伐剩余物管理对杉木人工林土壤 nosZ 型反硝化细菌群落多样性的影响.生态学报,2023, 43(9):3789-3797.

Wang X, Zhang X D, Yao Z W, Wu H L, Shu Q, Li Y F, Gao S H. Effects of logging residue management on soil *nosZ*-type denitrifying bacteria community diversity in a Chinese fir plantation. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(9): 3789-3797.

# 采伐剩余物管理对杉木人工林土壤 nosZ 型反硝化细菌群落多样性的影响

王 旭<sup>1,2</sup>,张旭东<sup>1</sup>,姚增旺<sup>1</sup>,吴海龙<sup>1</sup>,舒 琪<sup>1</sup>,李屹峰<sup>1</sup>,高升华<sup>1,\*</sup>

1 中国林业科学研究院林业研究所,北京 100091

2太原市林业和草原工程技术中心,太原 030001

摘要:反硝化细菌是土壤氧化亚氮(N<sub>2</sub>O)排放的关键因子。以杉木人工林为研究对象,设置4种采伐剩余物处理方式(RF:对照;RB:火烧;MT:粉碎;NR:移除),采用高通量测序技术,以nosZ为标记基因,测定了自2018年9月—2020年9月,2年期间土壤nosZ型反硝化细菌群落的组成和丰度。研究结果显示,4种采伐剩余物处理中的土壤nosZ型反硝化细菌90%以上来自变形菌门,优势菌属包括固氮螺菌属、中慢生根瘤菌属、动胶菌属、伯克霍尔德菌属、嗜酸菌属、慢生根瘤菌属、假单胞菌属、固氮弧菌属以及无色杆菌属;样本间差异物种的显著性分析表明,在处理完成半年时,火烧相较于对照于β-变形菌纲水平显著增加了nosZ基因丰度;在处理完成一年时,火烧分别于红螺菌目、红螺菌科、固氮螺菌属水平显著高于粉碎;粉碎相较于移除在处理完成一年时,于γ-变形菌纲和产碱菌科水平显著增加了nosZ基因丰度;在处理完成两年时,粉碎和亚氨基因丰度在变形菌门水平显著高于对照和火烧。α多样性数据显示,处理完成一年时,粉碎处理相较于对照和移除显著增加了Shannon和Simpson指数;处理完成两年时,粉碎和火烧处理相较于对照显著降低了ACE和Chao1指数。杉木人工林4种采伐剩余物处理方式对土壤nosZ型反硝化细菌群落的组成和丰度有显著影响,并随研究时间发生明显变化,这为全面了解人工林采伐更新方式下土壤氮循环过程中N<sub>2</sub>O排放的微生物机理提供了数据基础。

关键词:杉木人工林;采伐剩余物;反硝化细菌;nosZ基因丰度;氧化亚氮

# Effects of logging residue management on soil *nosZ*-type denitrifying bacteria community diversity in a Chinese fir plantation

WANG Xu<sup>1,2</sup>, ZHANG Xudong<sup>1</sup>, YAO Zengwang<sup>1</sup>, WU Hailong<sup>1</sup>, SHU Qi<sup>1</sup>, LI Yifeng<sup>1</sup>, GAO Shenghua<sup>1,\*</sup> 1 Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

2 Taiyuan Forestry and Grassland Engineering Technology Center, Taiyuan 030001, China

Abstract: Denitrifying bacteria was the key factor of soil nitrous oxide  $(N_2O)$  emission. Taking Chinese fir plantation as the research object, four treatments of logging residues were set up (RF, reference; RB, residue burning; MT, mulching treatment; NR, no residues), using high-throughput sequencing technology and *nosZ* as marker gene, the composition and abundance of soil *nosZ*-type denitrifying bacteria community were determined from September 2018 to September 2020. The results showed that more than 90% of soil *nosZ*-type denitrifying bacteria came from Proteobacteria in the four treatments, and the dominant bacteria included *Azospirillum*, *Mesorhizobium*, *Zoogloea*, *Burkholderia*, *Acidovorax*, *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Azoarcus* and *Achromobacter*. The results of significance analysis between samples in different species showed that the *nosZ* gene abundance at Betaproteobacteria level was significantly increased in RB compared with RF after the

基金项目:国家重点研发计划专题(2017YFC050550204);国家重点研发计划专题(2022YFF130300203)

收稿日期:2021-11-15; 采用日期:2022-08-17

<sup>\*</sup> 通讯作者 Corresponding author.E-mail: gaosh@ caf.ac.cn

treatment of half a year. After one year, the Rhodospirillales, Rhodospirillaceae and Azospirillum in RB were significantly higher than those in MT. Compared with NR, the abundance of nosZ gene was significantly increased in Gammaproteobacteria and Alcaligenaceae in MT after one year of treatment. The nosZ gene abundance at Proteobacteria level was also significantly higher in MT than that in RF and RB after two years of treatment. The alpha diversity data showed that the Shannon and Simpson indexes in MT were significantly increased compared with those in RF and NR after one year of treatment. After two years of treatment, ACE and Chao1 indexes in MT and RB were significantly lower than those in RF. The four different logging residue treatments in Chinese fir plantation had significant effects on the composition and abundance of soil nosZ-type denitrifying bacteria community, which changed significantly with the study time, providing a data basis for comprehensively understanding of the microbial mechanism of N<sub>2</sub>O emission of soil nitrogen cycling process under different forest cutting and regeneration methodology.

Key Words: Chinese fir plantation; logging residues; denitrifying bacteria; nosZ gene abundance; nitrous oxide

森林土壤的反硝化作用是氧化亚氮(N<sub>2</sub>O)的一个重要来源,能引起全球气候变暖并破坏臭氧层结构<sup>[1]</sup>。同时反硝化作用的最后一步,是由氧化亚氮还原酶(Nitrous oxide reductase, NOS)催化 N<sub>2</sub>O 至氮气(N<sub>2</sub>)的过程<sup>[2]</sup>,能成为 N<sub>2</sub>O 这种强大温室气体的重要吸收汇<sup>[3]</sup>。NOS 是目前唯一已知的催化这一反应的酶,其检测基因 *nosZ* 被认为是 NOS 的活性以及潜在反硝化速率的敏感指标<sup>[4-8]</sup>。因此,森林经营过程中采伐剩余物管理 如何影响土壤 *nosZ* 基因,进而达到减缓土壤 N<sub>2</sub>O 排放的研究就十分重要。

反硝化作用主要发生于土壤中,因此反硝化细菌会受到土壤环境条件、土地管理方式等的影响<sup>[9–11]</sup>。氧 气(O<sub>2</sub>)能在很大程度上抑制 NOS 的合成和活性<sup>[12–13]</sup>,严格的厌氧有利于增加 nosZ 基因丰度<sup>[14]</sup>。而低 pH 则会减缓 NOS 的周转和组装<sup>[15]</sup>。反硝化细菌的丰度还受到土壤含水量的影响,通常认为较高的土壤湿度能 显著增加土壤反硝化细菌丰度<sup>[16]</sup>。此外,长期施肥等经营方式也会改变土壤反硝化细菌群落多样性<sup>[17–19]</sup>。但是不同环境中不仅生态条件差异显著,菌群组成也千差万别,因此土壤微生物与环境因子间的关系仍然存 在很多不确定性。

采伐剩余物处理方式在人工林经营中至关重要,能通过影响土壤环境因子如土壤含水量、pH、土壤孔隙 度以及养分等<sup>[20-21]</sup>,直接或间接影响反硝化过程<sup>[4]</sup>。但现有研究多集中在传统的剩余物火烧处理对土壤 N<sub>2</sub>O通量的影响方面<sup>[22-23]</sup>,对剩余物不同处理方式的尝试以及处理方式对 NOS 活性和 nosZ 型反硝化细菌群 落的影响涉及较少。因此,为了阐明森林经营对土壤 N<sub>2</sub>O 排放的微生物影响机制,需要对不同采伐剩余物处 理方式下土壤 nosZ 型反硝化菌群结构的变化进行进一步研究。

杉木(*Cunninghamia lanceolata*(Lamb.)Hook.)作为我国南方人工林的代表性树种,分布广、面积大<sup>[24]</sup>,林 地土壤对 N<sub>2</sub>O 通量的调节作用研究较少,特别是采伐剩余物处理方式对土壤反硝化细菌群落调节 N<sub>2</sub>O 的机 理还不完全清楚。为揭示采伐剩余物处理方式对土壤反硝化过程中的关键酶(NOS)的活性以及 *nosZ* 基因多 样性的影响,本研究以杉木人工林为研究对象,探讨了 4 种采伐剩余物处理方式(对照、火烧、粉碎、移除)对 土壤 *nosZ* 型反硝化细菌群落组成和丰度的影响,以期为全面了解人工林不同采伐更新方式下土壤氮循环过 程的调节机理提供数据基础。

## 1 材料与方法

#### 1.1 研究区概况

研究区域位于江西省永丰县官山林场内,地理位置 27°14′48.00″N,115°29′55.85″E,海拔 64—109 m,年均 气温 18—22℃,年降水量 2100—2500 mm,属于中亚热带湿润季风气候。土壤类型以红壤为主。试验样地内 杉木林为 1980 年生人工纯林,密度约为 1725 株/hm<sup>2</sup>,胸径约为 19.79 cm,平均树高 19.92 m。样地林木分布 均匀,林下植被主要有蕨类 (Pteridophyta)、狗脊 (Woodwardia japonica)、芒萁 (Dicranopteris dicotoma)、淡竹 叶 (Lophatherum) 等。

1.2 实验设计

2018 年 8 月对试验区内林木进行皆伐,皆伐后带走商业用材(树干胸径 > 6 cm 的全部木材,不去皮)。 试验区内共设置 12 个小区,每个小区 8 m × 8 m,小区之间设置 2 m 的缓冲带。采伐剩余物(地上部分剩余的 所有残渣包括叶和枝)称重后分为 9 等份(每份 600 kg 叶子和 133 kg 枝),设置 3 种处理:对照(RF, reference),剩余物平铺在原地不做处理;火烧(RB, residue burning),剩余物在小区内火烧;粉碎(MT, mulching treatment),剩余物使用粉碎机粉碎至 1 cm 左右碎屑后平铺在林地;移除(NR, no residues)小区内不 安置剩余物。每种处理设置 3 个重复,各实验小区随机排列。

#### 1.3 土壤样品采集

样地设置完成后,分别于 2018 年 9 月、2019 年 3 月、2019 年 6 月、2019 年 9 月以及 2020 年 9 月时采集土 壤样品共 5 次,为期 2 a。在每个小区内沿对角线钻取 0—10 cm 土样,每 6 钻土作为一个混合土样,每个处理 取 3 次重复,每期 12 个样品。新鲜的土壤尽快运回实验室,去除细根和砾石等杂质,然后通过一个 2 mm 的筛 子,储存在-80℃下用于微生物多样性测定。

1.4 土壤微生物多样性测定

基于 Illumina HiSeq 测序平台,利用双末端测序(Paired-End)的方法,构建小片段文库进行测序。扩增引物使用 nosZ-2F(5'-CGCRACGGCAASAAGGTSMSSGT-3')和 nosZ-2R(5'-CAKRTGCAKSGCRTGGCAGAA-3')<sup>[25]</sup>。60个土壤样品测序共获得 4 799 380 对 Reads,双端 Reads 质控、拼接后共产生 4 327 453 条 Clean Reads,每个样品至少产生 62 129 条 Clean Reads,平均产生 72 124 条 Clean Reads,长度范围是 150—390 bp, 主要分布在 210—240 bp 之间。使用 Usearch 软件<sup>[26]</sup>对 Reads 在 97.0%的相似度水平下进行聚类、获得 OTU。随后进行物种注释及丰度分析,揭示样品的物种构成;并进行显著物种差异分析、相关性分析,挖掘样品之间的差异。

1.5 数据计算和分析

采用 Excel 软件(Microsoft Office 2016)和 SPSS(22.0)软件对数据进行汇总和计算,使用 OriginPro 2021 软件作图。利用 Venn<sup>[27]</sup>图展示不同处理样品之间共有、特有 OTU 数目。利用 Metastats<sup>[28]</sup>软件对组间的物 种丰度数据进行 T 检验;得到 P 值,通过对 P 值的校正,得到 Q 值;最后根据 Q 值筛选出导致两组样品组成 差异的物种,本分析分别在门、纲、目、科、属、种分类学水平进行。α 多样性指数分析使用 QIIME 软件,在 97%相似水平上进行 Wilcoxon 秩和检验。

#### 2 结果与分析

#### 2.1 土壤 nosZ 型反硝化细菌的群落组成

不同采伐剩余物处理的土壤 nosZ 型细菌群落的 OTU 组成存在明显的差异(图 1)。四种处理中共有的 OTU 为 814 个, RB 处理中产生 7 个特有 OTU, RF、MT 和 NR 均未产生特有 OTU。此外, RB 中 OTU 总数是最 多的,共计 870 个。说明 RB 增加了土壤 nosZ 型微生物群落的变异。此外,处理完成一年时(2019 年 9 月)样 品的特有 OTU 最多(310 个),远高于其他时期特有的 OTU 数量,说明此时土壤 nosZ 型反硝化菌群的变异最强(图 1)。

2.2 土壤 nosZ 型反硝化细菌群落的相对丰度

不同处理的各个采样时期土壤 nosZ 型反硝化菌群以门水平分类,分别是变形菌门(Proteobacteria),芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)和 bacterium\_AR28,没有明确注释信息的 nosZ 基因序列较少(0.16%—3.00%)(图 2)。其中变形菌门作为优势菌群相对丰度达到 94.62%—99.84%,最大值和最小值分别出现在 RB3 和 NR4 处理中。而芽单胞菌门和 bacterium\_AR28 相对丰度均较小(0.00%—2.44%),且主要出现在处理完成一年时(2019 年 9 月)的样本中。



图 1 不同处理以及采样时期样本的 OTU-Venn 图

#### Fig.1 OTU-venn diagram of samples in different treatments and sampling time

不同处理用不同颜色表示,不同颜色图形之间交叠部分数字为两个样本之间共有的特征个数;RF,RB,MT和NR分别代表对照、火烧、 粉碎和移除;T1,T2,T3,T4和T5分别代表2018年9月,2019年3月、6月、9月和2020年9月





**Fig.2** Relative abundance of *nos*Z-type denitrifying bacteria community in each sample on phylum and genus levels 1—5 代表 5 个采样时期,分别为 2018 年 9 月、2019 年 3 月、6 月、9 月和 2020 年 9 月

http://www.ecologica.cn

不同处理的各个采样时期土壤 nosZ 型反硝化微生物在属水平上共获得 27 类菌群,无法明确注释信息的 nosZ 基因序列超过 45.73%(图 2)。优势菌属主要包括:固氮螺菌属(Azospirillum),丰度范围达到 10.02%— 29.56%,各处理中两年内丰度平均值 MT 较高(20.13%);中慢生根瘤菌属(Mesorhizobium),丰度范围为 0.67%—10.93%,最高值出现在 RB3 样品中;动胶菌属(Zoogloea),丰度范围为 0.00%—6.43%,最大值和最小 值分别出现在样品 RF3 和 NR5 中。其次是伯克霍尔德菌属(Burkholderia)、嗜酸菌属(Acidovorax)、慢生根瘤 菌属(Bradyrhizobium)、假单胞菌属(Pseudomonas)、固氮弧菌属(Azoarcus)以及无色杆菌属(Achromobacter)等。 2.3 土壤 nosZ 型反硝化细菌群落的组间差异

进一步对土壤 nosZ 型反硝化细菌丰度在各分类等级下进行两两比较检验,以确定不同采伐剩余物处理 中有显著差异的物种(表1)。其中,RB2 在 β-变形菌纲(Betaproteobacteria)水平上显著高于 RF2 和 MT2,并 分别在红环菌目(Rhodocyclales)、科(Zoogloeaceae)、动胶菌属(Zoogloea)及种(Zoogloea\_sp)水平上显著高于 MT2(P<0.05)。MT4 分别在 γ-变形菌纲(Gammaproteobacteria)和产碱菌科(Alcaligenaceae)水平上显著高于 NR4,而 RB4 则分别在红螺菌目(Rhodospirillales)、红螺菌科(Rhodospirillaceae)、固氮螺菌属(Azospirillum)及 种(uncultured\_Azospirillum\_sp)水平上显著高于 MT4(P<0.05)。此外,MT5 还在变形菌门(Proteobacteria)水 平上显著高于 RB5 和 RF5(P<0.05)。第一期和第三期不同处理间样品未发现有显著差异的物种。综合而 言,相较于 RF 和 NR,RB 和 MT 显著增加了 nosZ 型反硝化细菌群落的丰度。

分类等级 Classification	微生物名称 Microorganism	组 1& 组 2 Group 1 & Group 2	平均值 (组1) Mean (Group 1)	平均值(组2) Mean (Group 2)	Q				
纲 Class	β-变形菌纲 Betaproteobacteria	RB2&MT2	$0.0944 \pm 0.0074$	$0.0432 \pm 0.0078$	0.0000				
纲 Class	β-变形菌纲 Betaproteobacteria	RB2&RF2	$0.0944 \pm 0.0074$	$0.0313 \pm 0.0103$	0.0000				
目 Order	红环菌目 Rhodocyclales	RB2&MT2	$0.0495 \pm 0.0017$	$0.0124 \pm 0.0039$	0.0000				
科 Family	Zoogloeaceae	RB2&MT2	$0.0495 \pm 0.0017$	$0.0124 \pm 0.0039$	0.0000				
属 Genus	动胶菌属 Zoogloea	RB2&MT2	$0.0490 \pm 0.0018$	$0.0122 \pm 0.0040$	0.0000				
种 Species	$Zoogloea\_sp$	RB2&MT2	$0.0490 \pm 0.0018$	$0.0122 \pm 0.0040$	0.0000				
纲 Class	γ-变形菌纲 Gammaproteobacteria	MT4&NR4	$0.0289 \pm 0.0002$	$0.0244 \pm 0.0013$	0.0000				
目 Order	红螺菌目 Rhodospirillales	RB4&MT4	$0.1930 \pm 0.0008$	$0.1820 \pm 0.0010$	0.0000				
科 Family	红螺菌科 Rhodospirillaceae	RB4&MT4	$0.1930 \pm 0.0008$	$0.1820 \pm 0.0010$	0.0000				
科 Family	产碱菌科 Alcaligenaceae	MT4&NR4	$0.0297 \pm 0.0012$	$0.0246 \pm 0.0001$	0.0000				
属 Genus	固氮螺菌属 Azospirillum	RB4&MT4	$0.1890 \pm 0.0008$	$0.1780 \pm 0.0005$	0.0000				
种 Species	uncultured_Azospirillum_sp	RB4&MT4	$0.1880 \pm 0.0011$	$0.1770 \pm 0.0007$	0.0000				
种 Species	Bradyrhizobium_oligotrophicum_S58	MT4&NR4	$0.0000 \pm 0.0000$	$0.0001 \pm 0.0000$	0.0000				
种 Species	Bradyrhizobium_oligotrophicum_S58	RF4&NR4	$0.0000 \pm 0.0000$	$0.0001 \pm 0.0000$	0.0000				
门 Phylum	变形菌门 Proteobacteria	RB5&MT5	$0.9870 \pm 0.0028$	$0.9970 \pm 0.0002$	0.0000				
门 Phylum	变形菌门 Proteobacteria	MT5&RF5	$0.9970 \pm 0.0002$	$0.9920 \pm 0.0022$	0.0000				

表1 不同分类等级下 nosZ 型反硝化细菌丰度的组间差异分析

ble 1 Analysis of inter-group differences in abundance of nosZ-type denitrifying bacteria at different classification levels

默认 P<0.05,表中仅列 Q<0.05的物种;1-5代表5个采样时期,分别为2018年9月、2019年3月、6月、9月和2020年9月

#### 2.4 土壤 nosZ 型反硝化细菌群落的 α 多样性

不同采伐剩余物处理完成一年(2019年9月)和两年时(2020年9月)的土壤 nosZ 型反硝化细菌群落 α 多样性分析结果见表 2。

处理完成一年时 MT 的 Shannon 和 Simpson 指数分别显著高于 RF 和 NR(P<0.05); ACE 和 Chao1 指数在 各处理间差异不显著(P > 0.05)。处理完成两年时 Shannon 和 Simpson 指数处理间差异不显著, ACE 和 Chao1 指数表现为 RB 和 MT 处理均显著低于 RF(P<0.05)。可见,处理完成一年时粉碎处理显著增加了土壤 nosZ 型反硝化细菌群落的多样性。

Table 2 Alpha diversity index of soil nosZ-type denitrifying bacteria community under different treatments											
时间 Date	处理 Treatment	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	ACE 指数 ACE index	Chao 1 指数 Chao index						
2019-09	RF	$7.35 \pm 0.05 \mathrm{b}$	$0.99 \pm 0.00$ ab	499.01±12.34a	501.07±14.00a						
	RB	$7.44 \pm 0.03$ ab	$0.99 \pm 0.00 \mathrm{ab}$	491.25±21.49a	497.42±18.49a						
	MT	7.43±0.01a	0.99±0.00a	507.95±12.10a	511.80±11.63a						
	NR	$7.34 \pm 0.07 \mathrm{ab}$	$0.98 \pm 0.00 \mathrm{b}$	528.71±12.48a	530.15±11.08a						
2020-09	RF	4.82±0.25a	$0.88 \pm 0.04$ a	318.80±36.15a	319.01±38.43a						
	RB	5.22±0.12a	0.95±0.01a	$259.55{\pm}10.58\mathrm{b}$	$227.14 \pm 2.67 c$						
	МТ	4.41±0.31a	0.89±0.03a	$234.16 \pm 3.69c$	$236.08{\pm}2.14\mathrm{b}$						
	NR	4.98±0.20a	0.93±0.01a	$281.03 \pm 30.33$ ab	261.22±13.25ab						

表 2 不同处理下土壤 nosZ 型反硝化细菌群落的 α 多样性指数

相同指数的不同小写字母表示不同处理间差异显著(P<0.05)

### 3 讨论

本研究以氧化亚氮还原酶(NOS)的关键基因 nosZ 作为完全反硝化细菌的标记,采用高通量测序技术分析了 4 种采伐剩余物处理方式下杉木人工林土壤中 nosZ 型反硝化细菌的群落组成和多样性特征。综合而 言,不同处理下土壤中 nosZ 型反硝化细菌群落在不同分类学水平上的群落组成及多样性差异显著。

3.1 采伐剩余物处理方式对土壤 nosZ 型反硝化细菌群落组成的影响

土壤 nosZ 型反硝化细菌群落组成受森林管理方式的显著影响[14,18],本研究中剩余物火烧和粉碎显著增 加了土壤 nosZ 型反硝化细菌群落的丰度。火干扰会改变土壤细菌群落的组成<sup>[29-30]</sup>,本研究中在处理完成半 年时,火烧相较于对照在β-变形菌纲水平上对土壤 nosZ 型反硝化细菌群落的丰度水平有显著提升作用;此外 火烧在处理完成一年时,较粉碎分别于红螺菌目、红螺菌科、固氮螺菌属及 uncultured\_Azospirillum\_sp 水平上 也有明显提升作用。Kennedy 等<sup>[31]</sup>的研究也表明火干扰会增加反硝化细菌群落丰度。剩余物火烧后, 地表 形成灰分,能在短期内为土壤微生物提供大量养分,且 pH 值会升高<sup>[4,32]</sup>,从而增加反硝化细菌的丰度,因为 通常低 pH 会减缓 N<sub>2</sub>O 还原酶的周转和组装<sup>[15]</sup>。但处理完成两年时火烧相较于粉碎,土壤 nosZ 型反硝化细 菌群落丰度在变形菌门水平上显著降低。一方面可能是土壤灰分后期受雨水冲刷等原因造成火烧区土壤养 分明显降低[32],甚至低于未火烧[33-34],从而使火烧对反硝化细菌群落丰度的促进作用在处理后期减弱。另 一方面,两年的时间足以使更多粉碎的剩余物分解,为土壤微生物释放更丰富的底物,增加了反硝化细菌群落 的丰度水平。本研究发现在处理完成一年时,粉碎相较于移除,已经分别在γ-变形菌纲和产碱菌科水平上显 著增加了 nosZ 基因丰度,并且在处理完成两年时,还在变形菌门水平上显著高于对照。粉碎处理中地表有机 物的物理屏障作用能减少水分蒸发增加土壤含水量[35],较高的土壤湿度能显著增加土壤反硝化菌丰度[16]。 此外,粉碎的剩余物覆盖在地表增加了剩余物接触水和热的面积,从而为微生物提供更多适宜的寄宿场所,使 剩余物分解率大大提高,能有效增加土壤氮、磷以及钾含量<sup>[33]</sup>,这为土壤微生物提供了充足的底物<sup>[17,36-37]</sup>。 外源养分输入能增加土壤反硝化菌群丰度[38],移除采伐剩余物相较于对照不仅地表裸露,阳光直射,含水量 降低,还损失了大量养分<sup>[32,35,39-40]</sup>,因此不利于提升反硝化细菌群落的丰度。

有研究表明40%的反硝化潜力的变化可以由细菌群落组成的差异来解释<sup>[41]</sup>。因此,不同采伐剩余物处 理方式导致的细菌群落组成差异最终可能会导致不同处理下土壤反硝化能力的差异,进而影响土壤氮循环过 程。但目前关于不同土壤 nosZ 型反硝化细菌群落的功能研究较少,对差异物种的具体功能的预测还需要进 一步研究。

3.2 采伐剩余物处理方式对土壤 nosZ 型反硝化细菌多样性的影响

不同的多样性指数可以反映微生物群落多样性的不同侧面,其中 ACE 和 Chao 1 指数度量的是菌群的丰富度,而 Shannon 和 Simpson 指数度量的则是菌群的多样性,是菌群丰富度和均匀度的综合指标。本研究表明

处理完成一年时,相较于对照和移除,粉碎显著增加了土壤 nosZ 型细菌群落的多样性。通常认为不同环境条件下 nosZ 基因型的微生物在土壤中相对稳定,受到环境因子的影响较小,因此多样性数据差异不显著<sup>[42]</sup>。但也有研究发现,nosZ 基因型是根瘤菌科的显性基因型,由于氮素的分布和活性在不同生境表现不同,导致不同土壤环境中 nosZ 的分布和群落多样性产生差异<sup>[9,18]</sup>。本研究中剩余物粉碎相较于对照和移除明显改变了土壤物理环境条件及养分输入情况<sup>[32,35]</sup>,尤其是剩余物粉碎处理后作为特殊的物理屏障能有效增加土壤湿度,较高的剩余物分解率也能为土壤微生物提供更多的有效氮,较高的土壤湿度和充足的基底物质均有利于提升厌氧反硝化菌群的活性,并增加反硝化菌群的多样性。但在处理完成两年时,粉碎和火烧处理中菌群ACE 和 Chao 1 指数较对照显著降低。此时,粉碎和火烧处理随着剩余物的分解、养分的释放和利用,较对照的优势已逐渐减弱<sup>[33]</sup>。对照样地中剩余物虽在处理初期分解缓慢,养分释放较少,但在处理完成两年时,土壤养分含量也逐渐得到积累<sup>[33]</sup>,较粉碎和火烧处理能有效增加群落的多样性。

综合而言,剩余物火烧处理能在处理初期显著提升土壤 nosZ 型反硝化菌优势群落的丰度水平,但对菌群的多样性没有明显促进作用;剩余物粉碎处理,既能增加 nosZ 型反硝化功能菌群的丰度水平,也能增加该菌群的多样性指数,这对减少土壤 N<sub>2</sub>O 排放有重要意义,因此将是全球气候变化背景下人工林经营中有潜力的管理方式。

#### 4 结论

4 种采伐剩余物处理中土壤 nosZ 型反硝化细菌主要来自变形菌门,优势菌属包括固氮螺菌属、中慢生根 瘤菌属以及动胶菌属等。在不同分类等级水平上,火烧分别在处理完成半年(相较于对照)和一年时(相较于 粉碎)显著增加了 nosZ 基因丰度;粉碎分别在处理完成一年(相较移除)和两年时(相较于对照和火烧),显著 增加了 nosZ 基因丰度。此外,处理完成一年时,粉碎处理中的 Shannon 和 Simpson 指数相较于对照和移除显 著增加;处理完成两年时,ACE 和 Chao 1 指数在粉碎和火烧处理中相较于对照显著降低。总之,剩余物粉碎 处理,既能增加 nosZ 型反硝化功能菌群的丰度水平,也能增加该菌群的多样性指数,这对减少土壤 N<sub>2</sub>O 排放 有重要意义,因此将是全球气候变化背景下人工林经营中有潜力的管理方式。本研究为全面了解不同人工林 采伐更新方式下土壤氮循环过程中 N<sub>2</sub>O 排放的微生物机制提供了数据基础。

#### 参考文献(References):

- Fernandes S O, Bharathi P A L, Bonin P C, Michotey V D. Denitrification: an important pathway for nitrous oxide production in tropical mangrove sediments (Goa, India). Journal of Environmental Quality, 2010, 39(4): 1507-1516.
- [2] 郑平.环境微生物学(第二版).杭州:浙江大学出版社, 2012.
- [3] Juhanson J, Hallin S, Söderström M, Stenberg M, Jones C M. Spatial and phyloecological analyses of nosZ genes underscore niche differentiation amongst terrestrial N<sub>2</sub>O reducing communities. Soil Biology and Biochemistry, 2017, 115: 82-91.
- [4] Zhang M Y, Wang W J, Wang D J, Heenan M, Xu Z H. Short-term responses of soil nitrogen mineralization, nitrification and denitrification to prescribed burning in a suburban forest ecosystem of subtropical Australia. Science of the Total Environment, 2018, 642: 879-886.
- [5] Petersen D G, Blazewicz S J, Firestone M, Herman D J, Turetsky M, Waldrop M. Abundance of microbial genes associated with nitrogen cycling as indices of biogeochemical process rates across a vegetation gradient in Alaska. Environmental Microbiology, 2012, 14(4): 993-1008.
- [6] Morales S E, Cosart T, Holben W E. Bacterial gene abundances as indicators of greenhouse gas emission in soils. The ISME Journal, 2010, 4(6): 799-808.
- [7] Jones C M, Stres B, Rosenquist M, Hallin S. Phylogenetic analysis of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide respiratory enzymes reveal a complex evolutionary history for denitrification. Molecular Biology and Evolution, 2008, 25(9); 1955-1966.
- [8] Scala D J, Kerkhof L J. Diversity of nitrous oxide reductase (nosZ) genes in continental Shelf Sediments. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(4): 1681-1687.
- [9] Rich J J, Myrold D D. Community composition and activities of denitrifying bacteria from adjacent agricultural soil, riparian soil, and creek sediment in Oregon, USA. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(9): 1431-1441.
- [10] 陈伏生, 曾德慧, 何兴元. 森林土壤氮素的转化与循环. 生态学杂志, 2004, 23(5): 126-133.

- [12] Betlach M R, Tiedje J M. Kinetic explanation for accumulation of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide during bacterial denitrification. Applied and Environmental Microbiology, 1981, 42(6): 1074-1084.
- [13] Otte S, Grobben N G, Robertson L A, Jetten M S M, Kuenen J G. Nitrous oxide production by Alcaligenes faecalis under transient and dynamic aerobic and anaerobic conditions. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62(7): 2421-2426.
- [14] Wu X, Liu H F, Fu B J, Wang Q, Xu M, Wang H M, Yang F T, Liu G H. Effects of land-use change and fertilization on N<sub>2</sub>O and NO fluxes, the abundance of nitrifying and denitrifying microbial communities in a hilly red soil region of southern China. Applied Soil Ecology, 2017, 120: 111-120.
- [15] Bergaust L, Mao Y J, Bakken L R, Frostegard A. Denitrification response patterns during the transition to anoxic respiration and posttranscriptional effects of suboptimal pH on nitrogen oxide reductase in *Paracoccus denitrificans*. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76 (19): 6387-6396.
- [16] Uchida Y, Wang Y, Akiyama H, Nakajima Y, Hayatsu M. Expression of denitrification genes in response to a waterlogging event in a Fluvisol and its relationship with large nitrous oxide pulses. FEMS Microbiology Ecology, 2014, 88(2): 407-423.
- [17] Hamonts K, Balaine N, Moltchanova E, Beare M, Thomas S, Wakelin S A, O'Callaghan M, Condron L M, Clough T J. Influence of soil bulk density and matric potential on microbial dynamics, inorganic N transformations, N<sub>2</sub>O and N<sub>2</sub> fluxes following urea deposition. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 65: 1-11.
- [18] Enwall K, Philippot L, Hallin S. Activity and composition of the denitrifying bacterial community respond differently to long-term fertilization. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(12): 8335-8343.
- [19] 陈哲,陈春兰,秦红灵,王霞,吴敏娜,魏文学. 化肥对稻田土壤细菌多样性及硝化、反硝化功能菌组成的影响. 生态学报, 2009, 29 (11): 6142-6147.
- [20] Premer M I, Froese R E, Vance E D. Whole-tree harvest and residue recovery in commercial aspen: Implications to forest growth and soil productivity across a rotation. Forest Ecology and Management, 2019, 447: 130-138.
- [21] Törmänen T, Kitunen V, Lindroos A J, Heikkinen J, Smolander A. How do logging residues of different tree species affect soil N cycling after final felling? Forest Ecology and Management, 2018, 427: 182-189.
- [22] Mäkiranta P, Laiho R, Penttilä T, Minkkinen K. The impact of logging residue on soil GHG fluxes in a drained peatland forest. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 48: 1-9.
- [23] Kim Y S, Makoto K, Takakai F, Shibata H, Satomura T, Takagi K, Hatano R, Koike T. Greenhouse gas emissions after a prescribed fire in white birch-dwarf bamboo stands in northern Japan, focusing on the role of charcoal. European Journal of Forest Research, 2011, 130(6): 1031-1044.
- [24] 彭镇华. 杉木速生丰产栽培. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1984.
- [25] Henry S, Bru D, Stres B, Hallet S, Philippot L. Quantitative detection of the nosZ gene, encoding nitrous oxide reductase, and comparison of the abundances of 16S rRNA, narG, nirK, and nosZ genes in Soils. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(8): 5181-5189.
- [26] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998.
- [27] Hanbo C, Paul C B. VennDiagram: a package for the generation of highly-customizable Venn and Euler diagrams in R. BMC Bioinformatics, 2011, 12(1): 35.
- [28] White J R, Nagarajan N, Pop M. Statistical methods for detecting differentially abundant features in clinical metagenomic samples. PLoS Computational Biology, 2009, 5(4): e1000352.
- [29] Yang S H, Zheng Q S, Yang Y F, Yuan M T, Ma X Y, Chiariello N R, Docherty K M, Field C B, Gutknecht J L M, Hungate B A, Niboyet A, Le Roux X, Zhou J Z. Fire affects the taxonomic and functional composition of soil microbial communities, with cascading effects on grassland ecosystem functioning. Global Change Biology, 2020, 26(2): 431-442.
- [30] Zhou X, Sun H, Sietiö O M, Pumpanen J, Heinonsalo J, Köster K, Berninger F. Wildfire effects on soil bacterial community and its potential functions in a permafrost region of Canada. Applied Soil Ecology, 2020, 156: 103713.
- [31] Kennedy N, Egger K N. Impact of wildfire intensity and logging on fungal and nitrogen-cycling bacterial communities in British Columbia forest soils. Forest Ecology and Management, 2010, 260(5): 787-794.
- [32] Wang X, Gao S H, Chen J Q, Yao Z W, Zhang L, Wu H L, Shu Q, Zhang X D. Response of functional diversity of soil microbial community to forest cutting and regeneration methodology in a Chinese fir plantation. Forests, 2022, 13(2): 360.
- [33] Yang Y, Guo J, Chen G, He Z, Xie J. Effect of slash burning on nutrient removal and soil fertility in Chinese fir and evergreen broadleaved forests of mid-subtropical China. Pedosphere, 2003, 13(1): 87-96.
- [34] 杨尚东,吴俊,谭宏伟,刘永贤,熊柳梅,周柳强,谢如林,黄国勤,赵其国.红壤区桉树人工林炼山后土壤肥力变化及其生态评价.生

态学报, 2013, 33(24): 7788-7797.

- [35] Wang X, Gao S H, Chen J Q, Yao Z W, Zhang X D. Reducing soil CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O emissions through management of harvest residues in Chinese fir plantation. Forest Ecology and Management, 2022, 511: 120140.
- [36] 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.
- [37] Pereira A P A, Durrer A, Gumiere T, Gonçalves J L M, Robin A, Bouillet J P, Wang J T, Verma J P, Singh B K, Cardoso E J B N. Mixed *Eucalyptus* plantations induce changes in microbial communities and increase biological functions in the soil and litter layers. Forest Ecology and Management, 2019, 433: 332-342.
- [38] 高思齐,宋艳宇,宋长春,马秀艳,蒋磊. 增温和外源碳输入对泥炭地土壤碳氮循环关键微生物功能基因丰度的影响. 生态学报, 2020, 40(13):4617-4627.
- [39] Roy S, Leban J M, Zeller B, Van Der Heijden G, Reichard A, Gehin M C, Santenoise P, Saint-Andre L. Removing harvest residues from hardwood stands affects tree growth, wood density and stem wood nutrient concentration in European beech (*Fagus sylvatica*) and oak (*Quercus* spp.). Forest Ecosystems, 2022, 9: 100014.
- [40] Smolander A, Törmänen T, Kitunen V, Lindroos A J. Dynamics of soil nitrogen cycling and losses under Norway spruce logging residues on a clearcut. Forest Ecology and Management, 2019, 449: 117444.
- [41] Peralta A L, Matthews J W, Kent A D. Microbial community structure and denitrification in a wetland mitigation bank. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(13): 4207-4215.
- [42] 陈秀波,朱德全,赵晨晨,张路路,陈立新,段文标. 凉水国家自然保护区不同林型红松林土壤 nosZ 型反硝化微生物群落组成和多样性分析. 林业科学, 2019, 55(8): 106-117.