DOI: 10.20103/j.stxb.202302020174

董政宏,张君红,何佳,王健宇,李玉玉,冀泳標,刘凯茜,王振刚,陈文青.土壤微生物网络复杂性预测黄土高原造林恢复生态系统多功能性.生态学报,2024,44(6):2544-2560.

Dong Z H, Zhang J H, He J, Wang J Y, Li Y Y, Ji Y B, Liu K X, Wang Z G, Chen W Q. Soil microbial network complexity predicts the multifunctionality of afforestation restoration ecosystems on the Loess Plateau. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(6):2544-2560.

土壤微生物网络复杂性预测黄土高原造林恢复生态系统多功能性

董政宏^{1,2},张君红^{1,2},何 $f^{1,2}$,王健宇^{1,2},李玉玉^{1,2},冀泳標^{1,2},刘凯茜³,王振刚³,陈文青^{1,2,*}

- 1 西北农林科技大学草业与草原学院,杨凌 712100
- 2 西北农林科技大学深圳研究院,深圳 518031
- 3 中华环境保护基金会,北京 100062

摘要:人类活动导致黄土高原土地退化和生物多样性丧失,进而降低了生态系统功能。人工造林是该区域退化土地恢复的重要措施。现有的生态修复研究通常侧重于微生物群落物种多样性的恢复对单一生态系统功能的影响,而忽略了微生物间存在的相互作用与生态系统多功能性(Ecosystem multifunctionality, EMF)的关系。为探究造林恢复过程中土壤微生物多样性和网络复杂性与 EMF 的关系,本研究采用时空代换法(space-time substitution method),沿 50 年造林恢复时间序列,分析了黄土高原地区造林恢复对土壤微生物群落多样性、土壤微生物网络复杂性以及与土壤养分循环相关的 10 个生态系统功能指标的影响,明确了土壤微生物群落特征与 EMF 的关系。结果表明,随造林恢复时间序列的增加,土壤微生物群落的综合多样性、网络复杂性和 EMF 均呈现出显著增加后下降的趋势(P<0.05),其中土壤微生物综合多样性和网络复杂性在第 8 年达到最高值,EMF 在第 20 年达到最大值。在未控制土壤环境因素时,细菌和古菌多样性与 EMF 无显著相关性,真菌多样性与 EMF 呈显著正相关(P<0.001);土壤微生物群落的综合多样性和网络复杂性对与 EMF 显著正相关(P<0.001);其中土壤微生物网络复杂性对 EMF 的解释度(P<0.001)均降低,但土壤微生物网络复杂性对 EMF 的解释度仍高于微生物综合多样性。结构方程模型(Structural Equation Model, SEM)进一步分析表明,土壤微生物多样性通过土壤微生物网络复杂性对预测 EMF。而且,土壤微生物综合多样性主要通过促进网络复杂性间接正向影响 EMF。本研究揭示了造林恢复生态系统中微生物群落特征与 EMF 的关系,为退化修复生态系统功能恢复提供了新的微生物调控机制解析。

关键词:造林恢复;微生物多样性;共现网络分析;网络复杂性;生态系统多功能性

Soil microbial network complexity predicts the multifunctionality of afforestation restoration ecosystems on the Loess Plateau

DONG Zhenghong^{1,2}, ZHANG Junhong^{1,2}, HE Jia^{1,2}, WANG Jianyu^{1,2}, LI Yuyu^{1,2}, JI Yongbiao^{1,2}, LIU Kaixi³, WANG Zhengang³, CHEN Wenqing^{1,2,*}

- 1 College of Grassland Agriculture, Northwest A&F University, Yangling 712100, China
- 2 Shenzhen Research Institute, Northwest Agriculture and Forest University, Shenzhen 518031, China
- 3 China Environmental Protection Foundation, Beijing 100062, China

基金项目:西北农林科技大学"青年英才培育计划"(2452020005);国家林业和草原局科技创新青年拔尖人才专项(2020132614);中华环境保护基金会美团外卖青山公益专项基金

收稿日期:2023-02-02; 网络出版日期:2023-12-22

* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: chen_wq@ nwsuaf.edu.cn

Abstract: Human activities have induced land degradation, loss of biodiversity, and the decline of the functions and services of ecosystems on the Loess Plateau. Vegetation restoration is an effective way to improve degraded ecosystems, and afforestation is an important measure to restore degraded land. Existing studies on ecological restoration have typically focused on the relationship between species diversity of microbial community and a single ecosystem function, neglecting the relationships between the interactions among microbial communities and ecosystem multifunctionality (EMF). In order to investigate the relationships of soil microbial biodiversity and the complexity of microbial networks with EMF in afforestation restoration, in this study, we used the space-time substitution method to investigate the effects of afforestation restoration on soil microbial diversity, soil microbial network complexity, and 10 variables of ecosystem function related to soil nutrient cycling and plant productivity along a 50-year afforestation chronosequence, with an aim to the relationships between the soil microbial community characteristics and EMF. The results indicated that microbial multi-diversity and network complexity of the soil microbial community increased significantly with the increase of time series of afforestation restoration, reaching a peak in the eighth year, and then decreased (P<0.05); EMF showed a trend of increasing and then decreasing, reaching a maximum in the twentieth year (P<0.05). With soil environmental factors not controlled, bacterial and archaeal diversity was not significantly correlated with EMF, while fungal diversity was significantly positively correlated with EMF (P< 0.001). Both the soil microbial multi-diversity and network complexity showed significant positive correlations with EMF (P<0.001), with the soil microbial network complexity explaining more about EMF than microbial multi-diversity. Although the multi-diversity and network complexity of soil microorganisms explained less about EMF after controlling the effect of soil factors by partial least squares regression analysis (P<0.001), the microbial network complexity explained more about EMF than microbial multi-diversity. Furthermore, structural equation model (SEM) showed that soil microbial diversity had an indirect effect on EMF in afforested restoration sites through soil microbial network complexity. In summary, the microbial network complexity was a more effective predictor of EMF than soil microbial multi-diversity. Soil microbial multi-diversity positively influenced EMF in an indirect manner, mainly by contributing to network complexity. Our study revealed the relationship between microbial community characteristics and EMF in afforestation restoration ecosystems, providing a theoretical basis for improving the restoration of degraded restoration ecosystem functions.

Key Words: afforestation restoration; microbial diversity; co-occurrence network analysis; network complexity; ecosystem multifunctionality

黄土高原是我国生态最脆弱的区域之一,土地过度利用是导致黄土高原自然植被破坏,水土流失,生物多样性丧失,生态系统功能下降的重要因素^[1-4]。已有研究证明,造林修复通过改善土壤理化性质,改变土壤微生物群落结构,进而影响生态系统功能^[5-7]。土壤微生物包括古菌、细菌和真菌等肉眼不可见的微小生物,它们是土壤中最活跃的部分^[8-9],是评估生态系统状况、土壤质量和退化土地恢复进程的重要指标^[10]。此外,土壤微生物是生态系统的重要组成部分,在驱动多种生态系统功能等方面发挥重要作用,包括促进植物生产力、调节土壤养分循环和能量流动等^[11-12]。生态系统多功能性(Ecosystem multifunctionality,EMF)是生态系统同时提供多种生态系统功能和服务的能力^[13-14]。EMF 作为评价多个生态功能的综合指标,对全面了解生态系统结构和功能具有重要意义。近年来,EMF 的研究已成为生态学的关注重点,但目前关于造林生态恢复背景下 EMF 的土壤微生物作用机制研究较少。

在自然生态系统中,室内控制实验^[15-16]和原位调查研究^[17]研究均表明,土壤微生物多样性与 EMF 存在正相关关系。因此,随着退化生态系统中土壤微生物多样性的恢复,其生态系统功能也随之恢复。但与草地^[17]、农田^[18]等生态系统的研究相比,造林修复生态系统土壤微生物多样性与 EMF 关系的研究相对不足。而且,随着研究的深入,研究者们发现,自然环境中的土壤微生物类群并非以单独的个体形式存在,而是通过物质循环、能量流动和信息传递等过程相互作用形成复杂的生态网络,该网络特征在生态系统功能的维持中

具有重要作用^[19-21]。因此,仅关注微生物多样性,不足以揭示 EMF 的微生物作用机制。共现网络分析为研究微生物群落的结构和群落间相互作用关系提供了标准化框架,因而被广泛用于分析微生物类群间的相互作用关系^[22-23],目前在湖泊^[24]、海洋^[25]、土壤^[26]和人类肠道^[27]等生态系统均有应用。尽管共现网络分析在反映物种间真实的生态联系方面存在一定局限性^[28],但它仍为理解微生物群落结构及物种间的相互作用等方面提供了新途径,有助于表征物种间无法直接观测的复杂关系^[29-31]。青藏高原高寒草甸^[32-33]、黄土高原自然恢复草地^[34]等多项原位研究均发现,土壤微生物网络复杂性会影响微生物群落结构和 EMF。但迄今为止,关于退化修复生态系统土壤微生物网络复杂性与 EMF 关系的研究较少。

自我国实施退耕还林(草)工程以来,黄土高原的生态环境得到明显改善,在增加植被覆盖度,改善土壤理化性质,丰富土壤微生物群落结构,修复退化生态系统功能等方面成效显著。本文以干旱半干旱地区的黄土丘陵区为研究区域,采用时空代换法,以不同造林恢复年限(2年、8年、20年、30年、50年)的土壤作为研究对象,探究土壤微生物群落(古菌、细菌、真菌)多样性、微生物共现网络复杂性与EMF的关系,以期为黄土高原地区生态系统功能恢复提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于黄土高原腹地(36°40′51″—37°18′28″N,108°52′50″—109°27′49″E),海拔 1164—1501 m,地势西北高东南低,地形地貌复杂多样,沟壑纵横,是典型的黄土丘陵沟壑区。土壤以黄绵土为主,土层深厚,土质疏松多孔,多以细砂粒和粉粒为主,土壤肥力水平低,透水性良好,蓄水能力强。该地区的气候类型属中温带半干旱大陆性季风气候,光照充足,昼夜温差大,气候干旱,四季分明,雨热同期,年均温 9.1℃,年均降水量约660 mm,年蒸发量大于1400 mm,年日照时数 2300—2400 h,全年无霜期 160 d。

黄土高原造林修复前,该地区的退化农田主要种植谷子(Setaria italica (L.) Beauv.)、马铃薯(Solanum tuberosum L.)、玉米(Zea mays L.)等作物;实施退耕还林(草)工程后,研究区主要人工造林树种为刺槐(Robinia pseudoacacia L.)。林下常见植物种有阿尔泰狗娃花(Heteropappus altaicus)、白羊草(Bothriochloa ischaemum(L.)Keng)、丛生隐子草(Cleistogenes caespitosa Keng)、胡枝子(Lespedeza davurica)、大针茅(Stipa grandis P.A. Smirn.)、鬼针草(Bidens pilosa L.)、甜菊(Stevia rebaudiana)、茵陈蒿(Artemisia capillaris)、硬质早熟禾(Poa sphondylodes Trin)等。

1.2 样品采集

于 2020 年 8 月 (植物生长和微生物活动的高峰期)进行原位调查和样品采集。使用样带法分别在 5 个不同造林恢复年限 (2 年、8 年、20 年、30 年、50 年) 地区随机设置 12 个 15 m×15 m 样地,采用五点取样法在12 个样地分别设置 5 个 1 m×1 m 的样方。用单位面积内植物种类数作为植物多样性 (Plant species richness, PSR) 指标;把齐地刈割地上植物部分置于 65℃烘箱中,烘干 48 h 后称重,获得植物生长高峰期的地上生物量 (Aboveground biomass,AGB) 用以表征即地上净初级生产力 (Aboveground net primary productivity,ANPP) [32,35];用土钻采集表层土壤样品(直径 5 cm,深度 10 cm),每个样方内采集 6—7 个土芯,去除杂质后混匀,过 2 mm 土筛,装入密封袋中备用,共得到 60 份土壤样品 (5 个不同恢复年限×12 个重复)。为测定各项土壤指标,将所得土壤样品分为两部分,一部分置于冰箱 4℃储存,用于测定土壤理化性质和部分生态功能指标;另一部分储存于~80℃冰箱中,用于微生物分析。

1.3 土壤理化性质测定

土壤与水按 1:2.5 的比例制成土壤悬浊液,通过 pH 计(UV-1800, Shimadzu, 日本)测定土壤 pH 值;取 10 g新鲜土壤样品,置于 105℃烘箱中烘干 8 h 后取出,在干燥器中冷却至室温(约 30 min),计算烘干前后土壤的质量差测定土壤水分质量,通过土壤含水量(Soil moisture, SM)=(土壤水分质量/土壤样品质量)×100%的公式计算土壤含水量;取 1 g 风干土过 0.85 mm 筛网后置于 50 mL 离心管中,加入 20 mL 0.11 mol/L 乙酸,

离心机设置 30 rpm 振荡 20 h 后设置 3000 rpm 离心 20 min,得到土壤可交换阳离子(Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+}) 提取物,随后用 ICP-OES 光谱仪(Spectro Analytical UK, Halesowen,英国)测定土壤离子含量[36];参照 Kettler 等人[37] 的方法测定土壤质地,即砂粒、粉粒和黏粒含量(Sand%, Silt%, Clay%),具体操作如下:在 45 mL 质量浓度为 3%六偏磷酸钠(HMP)溶液中加入 15 g 风干土壤,往复式振动筛(reciprocating shaker)设置 120 rpm 振荡 2 h 完成土壤颗粒分散,分散后的土壤泥浆过 0.053 mm 筛收集砂粒和粉粒,分别置于烘箱内烘干至恒重,在干燥器中冷却至室温后称重测到砂粒和粉粒质量,土壤质地公式:砂粒含量(Sand%)=(烘干后砂粒质量/原始土壤样品质量)×100%;粉粒含量(Silt%)=(烘干后粉粒质量/原始土壤样品质量)×100%;黏粒含量(Clay%)=100%-(砂粒含量+粉粒含量)。

1.4 土壤 DNA 提取、高通量测序及生物信息学分析

使用 PowerSoil DNA 分离试剂盒(MO BIO laboratories, Carlsbad, 美国),按标准化方案从 0.25 g 湿润的土壤中提取土壤总 DNA,每个样品的土壤 DNA 需重复三次后合并以减小误差。DNA 提取物在 1%琼脂糖凝胶上分离纯化,并使用 NanoDrop UV-Vis 分光光度计(ND-2000c, NanoDrop Technologies, DE,美国)测定提取 DNA 的浓度和纯度。选择引物对 Arch519F(5'-CAGCCGCCGCGGTAA-3')和 Arch915R(5'-GTGCTCCCCGCC AATTCCT-3')扩增古菌 16S rRNA;选择引物 515F(5'-GTGCCAGGCGCGCGGGGTA-3')和 907R(5'-CCGTC AATTCCTTGAGTTT-3')扩增细菌 16S rRNA;选择引物对 ITS5-1737F(5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3')和 ITS2-2043R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')对真菌进行扩增^[38]。扩增产物送至上海美吉生物医药有限公司,采用 Illumina MiSeq 测序平台进行高通量测序。

使用 DADA2 软件包对原始序列进行优化处理^[39]:使用 cutadapt 软件^[40]修剪数据中低质量序列,利用 learnErrors 函数检测测序过程中的错误,通过 mergePairs 软件合并序列中的重叠区域得到原始数据,检测数据序列中的嵌合体序列,并去除其中的嵌合体序列,得到更高分辨率的扩增子序列变体(amplicon sequence variants, ASVs),使用 SILVA 138 和 UNITE 8 数据库对所有 ASV 进行分类注释,获得每个 ASV 的代表序列的分类信息。

使用平均值法^[15,42]计算土壤微生物综合多样性指数(Soil microbial multi-diversity index)。将古菌、细菌和真菌丰度通过 R 语言的 scale 函数进行标准化分析,使三种土壤微生物类群丰度均控制在 0—1 范围内,计算古菌、细菌和真菌标准化结果的平均值获得土壤微生物综合多样性指数。

1.5 土壤微生物共现网络构建与分析

本研究参照 Ma 等^[43]的方法构建了不同造林恢复年限(2年、8年、20年、30年、50年)的土壤微生物共现网络,具体方法如下:构建网络前,对原始 ASVs 数据进行筛选,移除相对丰度小于 0.015%及单个样地物种出现频率小于 5 的 ASVs。计算 Spearman 相关系数和 Jaccard 相异性的 P 值,使用 Brown's 方法进行合并^[44],通过 FDR 控制程序校正 P 值^[45]。基于 *RMThreshold* 函数实现的随机矩阵理论(Random matrix theory,RMT)算法,确定构建土壤生物共现网络的相关阈值,最终构建微生物共现网络。使用 R 语言 igraph 包进行网络构建并提取子网络(sub-network)。

通过 R 语言的 *igraph* 包计算共现网络复杂性的拓扑属性,进一步计算土壤微生物的复杂性指数。本研究中表征网络复杂性的网络拓扑属性包括节点数目(Number of nodes)、连接数目(Number of edges)、平均度(Average degree)、聚类系数(Clustering coefficient)、平均路径长度(Average path length)、网络直径(Network diameter)和图密度(Graph density)^[34,46]。平均路径长度是指网络中两个节点间路径长度的平均值;网络直径是指所有节点间距离的最大值;平均度是指网络中所有节点间连接数量的平均值;聚类系数是指一个节点与相邻节点联系的紧密程度;图密度是指整个网络的紧密程度^[47]。因此,节点和连接数目越多,平均度、聚类系数和图密度越高,平均路径长度和网络直径越短,表明网络结构越紧密,土壤微生物网络复杂程度越高^[31,47—48]。最后使用主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)提取上述网络拓扑属性的第一个主成分,用以表征土壤微生物网络复杂性(Soil microbial network complexity),用于探究其与 EMF 的关系。由于平

均路径长度和直径越大表示微生物网络越稀疏,因此平均路径长度与网络直径以倒数 (X^{-1}) 形式参与微生物网络复杂性指数的计算 $^{[46]}$ 。

1.6 生态系统功能测定及多功能性指数计算

为评估造林恢复对生态系统功能的影响,测定了以下 10 个生态功能指标: 植物多样性(Plant species richness, PSR)、地上净初级生产力(Aboveground net primary production, ANPP)、土壤有机碳含量(Soil organic carbon, SOC)、土壤全氮含量(Soil total nitrogen, STN)、土壤总磷含量(Soil total phosphorus, STP)、土壤有效磷含量(Soil available phosphorus, SAP)、土壤铵态氮含量(NH $_4^+$ -N)、土壤硝态氮含量(NO $_3^-$ -N)、微生物量(Microbial biomass)和 N $_2$ O 减排量(Reduced N $_2$ O emission)。总地来说,这些指标较好地概括了生态系统的调节与供给功能,如土壤养分状况、矿化作用、植物生产力等生态系统功能 $_1^{[46,49]}$ 。

将土壤样品与 1 mol/L 盐酸反应去除无机碳,使用 TOC 分析仪(Shimadzu, 日本)测定土壤有机碳含量;土壤样品通过硫酸-混合催化剂消煮后,使用 2300 Kjeltec Analyzer Unit(FOSS,瑞典)测定土壤全氮含量;取 10 g 土壤样品,加入 60 mL 的 2 mol/L KCl 溶液,震荡 1 h,过滤浸提液后使用 Flow-Solution analyzer(Flowsys, Ecotech, Essen,德国)测得土壤铵态氮和硝态氮含量;分别通过硫酸-高氯酸消煮法和 0.5 mol/L NaHCO₃溶液提取土壤全磷和有效磷后,采用钼蓝比色法通过紫外分光光度计(UV-1800,Shimadzu,日本)测定土壤全磷和有性磷含量;称取 40 g 风干土壤置于 250 mL 广口瓶中,分别在培养的第 2、4、6、10、15、21、30 天,橡胶密闭 60 min,使用抽气针筒采集第 10、20、40、60 min 的 N₂ O 气体于真空玻璃瓶中,通过气相色谱仪(HP7890A,Agilent Technologies,Santa Clara,CA,美国)分析,使用线性插值法计算每个采样日 60 min 内的 4 个测量值以获得各采样日的 N₂O 通量。采用氯仿熏蒸-K₂SO₄浸提法(Fumigation-extraction,FE)测定微生物量;植物多样性(PSR)和净初级生产力(ANPP)的测定方法如上文所述。

使用平均值法^[13]计算生态系统多功能指数。首先将上述 10 种生态功能指标分别通过公式 $Y_i = (X_{raw} - X_{min})/(X_{max} - X_{min})$ 进行均一化,使得所有生态功能指标都控制在 0—1 范围内。其中, Y_i 代表第 i 种生态功能指标均一化的数值, X_{raw} 代表样方内某种生态功能指标的数值, X_{max} 代表所有样方内该生态功能指标的最大值, X_{min} 代表所有样方内该生态功能指标的最小值^[43]。使用公式 $EMF = \Sigma Y_i/10$ 计算获得生态系统多功能性指数(Ecosystem multifunctionality index, EMF)。

1.7 数据处理与分析方法

使用 Microsoft Excel 2016 对原始数据进行整理和汇总,对不同造林恢复年限土壤理化性质、土壤微生物 多样性、网络拓扑属性及土壤微生物网络复杂性、单一生态系统功能及 EMF 进行单因素方差分析(Analysis of variance, ANOVA),使用 Duncan 多重比较方法检验不同年限各指标间的显著性差异;使用普通最小二乘回归 (Ordinary Least Squares regression, OLS)分别对土壤微生物多样性、微生物网络复杂性与 EMF 的关系进行分 析。使用 Pearson 相关分析分别筛选出与土壤微生物多样性、土壤微生物网络复杂性与 EMF 均显著相关的土 壤因子,通过偏线性回归分析(Partial least squares regression, PLSR)检验在排除土壤因子影响后,土壤微生物 群落属性(多样性、共现网络复杂性)与 EMF 的关系。构建结构方程模型(Structural Equation Model, SEM), 探索土壤因子、土壤微生物多样性、土壤微生物网络复杂性和 EMF 之间的相互关联。构建 SEM 前,基于预先 设定的因子间相互关系构建先验模型(表1,图1)。将土壤数据(土壤含水量、pH、土壤质地、土壤离子)、微生 物数据(土壤微生物多样性和网络复杂性)和生态系统多功能性指数进行标准化处理,并进行线性诊断以保 证所有变量之间存在显著线性且不存在多重共线性的关系。将影响 EMF 的所有因素作为观测变量引入到结 构方程模型中,采用 bootstrap 重采样评估路径系数不等于零的概率,将所有数据整合到模型后,使用最大似然 估计法检验整体拟合优度,逐一删减不显著的路径,重新调整先验模型,得到所有路径均显著的最终模型[33]。 符合拟合优度标准如下[65]:0.97 \leq CFI \leq 1.00;0.95 \leq GFI \leq 1.00;0.95 \leq NFI \leq 1.00;0 \leq χ^2 /df \leq 2 且 0.05 < P \leq 1.00;0≤RMSEA≤0.05 且 0.10<P≤1.00。统计分析在 R 4.0.3 中完成, SEM 的构建与检验通过 Amos 24.0 软 件完成。

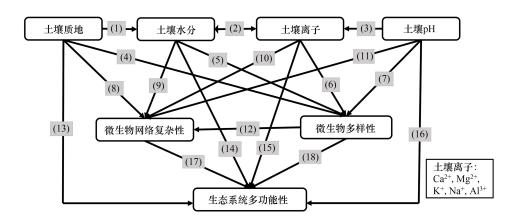


图 1 土壤和微生物群落属性预测 EMF 的结构方程先验模型

Fig.1 Priori structural equation model of soil factors and microbial community attributes as predictors of ecosystem multifunctionality 图中箭头指示的方向表示各变量间的因果关系,序号指代各作用路径

表 1 结构方程先验模型路径依据

Table 1 Rationales of pathways in priori structural equation model

	radici Radionales of pathways in priori structural equation model					
序号	路径	依据				
Sequence number	Pathway	Rationale				
1	土壤质地→土壤含水量	土壤质地会改变土壤孔隙等性质,影响土壤水分运移,进而影响土壤含水量[50]。				
2	土壤含水量↔土壤离子	一方面,土壤水分能够提高土壤缓冲能力,从而降低酸性离子浓度 ^[51] 。另一方面,土壤离子影响土壤持水能力,进而影响土壤含水量 ^[52] 。				
3	土壤 pH→土壤离子	土壤 pH 影响土壤离子的迁移 ^[53] 。				
4,5,6,7	土壤因素→土壤微生物多样性	土壤因素(土壤质地、土壤含水量、土壤离子、土壤 pH)对土壤生物多样性至关重要。土壤质地是微生物群落的重要驱动力 ^[54] ;土壤水分状况对微生物群落的形成起主要作用 ^[55] ;土壤中的一些可溶性盐离子通过改变土壤生物的生长发育繁殖间接影响土壤生物群落多样性 ^[56—57] 。				
8,9,10,11	土壤因素→土壤微生物网络复 杂性	共现网络能够反映群落间相互作用,土壤因素(土壤含水量,土壤 pH,土壤离子和土壤质地)影响微生物相互作用,因此可以解释微生物共现网络的拓扑特征 ^[58] 。				
12	土壤微生物多样性→土壤微生 物网络复杂性	土壤微生物多样性是决定微生物网络结构的重要因素,是形成网络的重要部分 ^[59] 。				
13,14,15,16	土壤因素→EMF	土壤因素(土壤质地、土壤含水量、土壤 pH、土壤离子)是 EMF 的关键驱动 因子 $^{[17,60-62]}$ 。				
17	土壤微生物网络复杂性→EMF	土壤微生物群落之间形成复杂的相互作用关系具有影响生物群落维持生态系统功能的能力 $^{[63]}$ 。				
18	土壤微生物多样性→EMF	土壤微生物多样性可以影响多种生态系统过程,包括生物地球化学循环和生态进化动态[64]。				

表中箭头指示的方向表示各变量间的因果关系,序号指代各作用路径

2 结果与分析

2.1 土壤因子随造林恢复年限的变化特征

造林修复显著改变了土壤的物理性质(表 2)。单因素方差分析结果表明,土壤 pH 在造林恢复前 30 年无变化,但在第 50 年显著下降(P<0.05);土壤含水量随造林恢复进程呈现先增后减的趋势,在第 8 年达到最大值。造林后土壤离子含量呈现 $Ca^{2+}>Mg^{2+}>K^+>Na^+>Al^{3+}$ 的趋势。随造林恢复年限的增加,土壤 K^+ 含量显著升高(P<0.05),土壤 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 含量显著降低(P<0.05),土壤 Na^+ 、 Al^{3+} 含量变化不明显。随造林恢复进程,土壤砂粒含量显著减少(P<0.05);粉粒含量显著增加(P<0.05);土壤黏粒含量先增加后降低,在造林恢复的第 20 年达到最高值(P<0.05)。

表 2 土壤因子随造林年限的变化

Table 2 Climate and edaphic variables along afforestation restoration chronosequence

造林年限 Afforestation chronosequence	2 a	8 a	20 a	30 a	50 a
纬度 Longitude/N	37°18′28″	36°40′55″	36°40′5″	36°44′39″	36°44′41″
经度 Latitude/E	108°52′50″	109°27′46″	109°27′49″	109°19′56″	109°19′53″
海拔 Elevation/m	1501	1134	1123	1164	1178
植被类型 Vegetation type	弃耕地	林地	林地	林地	林地
土壤酸碱性 Soil pH	8.25±0.1a	8.27±0.1a	8.21±0.1a	8.26±0.1a	$7.80 \pm 0.1 \mathrm{b}$
土壤含水量 Soil moisture/%	$10.44 \pm 0.5 \mathrm{b}$	12.72±0.7a	11.04±0.6b	$8.60 \pm 0.4 c$	$6.71{\pm}0.5\mathrm{d}$
砂粒含量 Sand/%	47.88±1.4a	41.66±1.6b	41.93 ± 1.3 b	$42.91 \pm 1.1b$	$40.70 \pm 1.2 \mathrm{b}$
粉粒含量 Silt/%	$35.16 \pm 1.7 \mathrm{b}$	40.97±1.5a	39.84±1.2a	40.71±1.1a	44.02±1.2a
黏粒含量 Clay/%	$16.96 \pm 0.7 ab$	17.37±0.5a	18.23±0.7a	$16.38 \pm 0.6 ab$	$15.27 \pm 0.6 \mathrm{b}$
钙离子含量 Ca ²⁺ /(mg/kg)	1548.25±51.1a	1501.67±30.0a	1628.67±33.8a	$1346.42 \pm 56.5 \mathrm{b}$	1011.42±59.7c
钠离子含量 Na ⁺ /(mg/kg)	63.83±4.4	63.25±3.5	60.17±4.7	65.42±3.8	63.08±5.1
镁离子含量 Mg ²⁺ /(mg/kg)	184.25±6.7a	180.33±9.2a	164.67±7.2a	$132.75 \pm 5.3 \mathrm{b}$	$145.17 \pm 4.8 \mathrm{b}$
钾离子含量 K+/(mg/kg)	$79.42 \pm 4.1 \mathrm{b}$	106.92±4.4a	99.83±6.7a	107.58±7.9a	$96.25 \pm 7.4 ab$
铝离子含量 Al ³⁺ /(mg/kg)	37.58±3.0	43.75±3.1	38.00 ± 2.2	44.58±3.3	43.58 ± 2.5

土壤因子数据的表示形式为平均值±标准误,同行中不同小写字母表示不同造林恢复年限之间具有显著差异(P<0.05)

2.2 不同造林恢复年限土壤微生物多样性和微生物共现网络复杂性的变化

造林恢复显著改变了土壤微生物多样性(P<0.05,图 2)。土壤古菌多样性先显著增加,在造林恢复的第8—20年达到最大值后显著降低;细菌多样性呈总体上升的波动趋势,造林后第8年达到第一个最高值后显著下降,随后显著增加,第30年达到第二个最大值后显著下降;真菌多样性随恢复年限的增加呈现显著增大的变化趋势;土壤微生物综合多样性指数先显著增加,在第8年达到最大值后显著下降。表征土壤微生物网络复杂性的7个拓扑属性随造林恢复进程均发生显著改变(P<0.05,图3),其中,节点数目、连接数目、平均度和图密度在造林后显著增加,均在第8年达到最大值后显著下降,但在造林恢复的第30年或50年显著增加;聚类系数在造林后呈现先显著增加,在第8年达到最大值后显著降低;网络直径和平均路径长度随造林恢复

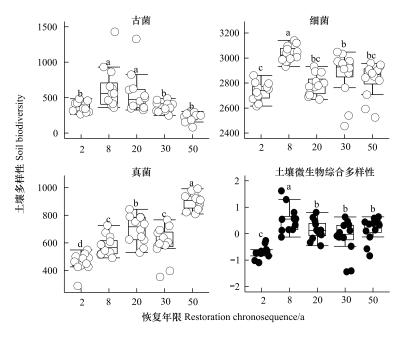


图 2 不同造林恢复年限,土壤古菌、细菌、真菌多样性与土壤微生物综合多样性指数的变化

Fig.2 Changes in soil archaeal, bacterial, fungal diversity and multi-diversity indices along afforestation restoration chronosequence

年限的增加显著下降。土壤微生物共现网络复杂性指数造林后先显著增加,在第8年达到最高值后显著下降。

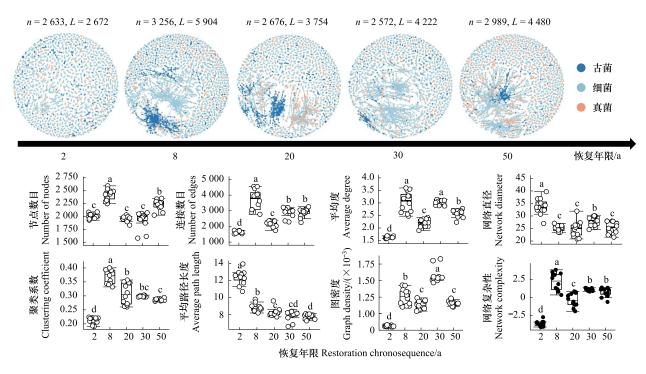


图 3 不同造林恢复年限,土壤微生物的共现网络和网络拓扑属性的变化

Fig.3 Network visualization of microbial co-occurrence patterns and network topology properties over afforestation restoration chronosequence

图 3 节点表示 ASVs,连接表示 ASVs 之间显著的相关性(P<0.05);节点的大小与 ASV 的相对丰度成正比,每个连接的宽度与 Spearman 的相关系数成正比;不同节点颜色代表不同的土壤微生物类群

2.3 造林恢复年限对生态系统功能的影响

随造林恢复进程的增加,土壤有机碳(SOC)、土壤全氮(STN)、土壤全磷(STP)含量和微生物量先显著增加后显著降低(P<0.05),其中土壤有机碳、土壤全磷和微生物量均在第 20 年达到最大值,土壤全氮含量在造林恢复的第 30 年达到最大值;土壤有效磷(SAP)含量无明显变化;土壤铵态氮(NH $_4$ -N)含量、土壤硝态氮(NO $_3$ -N)含量、N $_2$ O 减排量和植物多样性呈总体上升的波动趋势,其中土壤铵态氮含量在造林第 8 年显著降低,随后显著增加并在第 20 年达到最高值,但造林 30 年显著下降后又显著增加(P<0.05),土壤硝态氮(NO $_3$ -N)含量、N $_2$ O 减排量和植物多样性则呈现先显著增加后显著减小再显著增加的趋势;地上净初级生产力(ANPP)造林后显著增加(P<0.05)。EMF 在造林后显著增加,但在造林恢复的第 20 年达到最高值后显著下降(P<0.05,图 4)。

2.4 土壤微生物多样性、微生物共现网络复杂性与 EMF 的关系

各土壤微生物类群与 EMF 的回归分析结果如图 5 所示。土壤古菌、细菌多样性与 EMF 不相关,而真菌多样性与 EMF 表现为线性正相关(P<0.001)。土壤微生物网络属性与 EMF 的线性回归分析表明,节点数目与 EMF 的无相关性,而连接数目、平均度、聚类系数、图密度与 EMF 显著正相关(P<0.001),网络直径和平均路径长度与 EMF 表现为显著负相关(P<0.001)(图 6)。土壤微生物群落的综合多样性、土壤微生物共现网络复杂性与 EMF 之间均存在极显著正相关(P<0.001),但土壤微生物共现网络复杂性对 EMF 的解释度高于微生物多样性(图 5,图 6)。

Pearson 相关分析结果显示,土壤砂粒含量与土壤微生物多样性、土壤微生物网络复杂性和 EMF 均存在

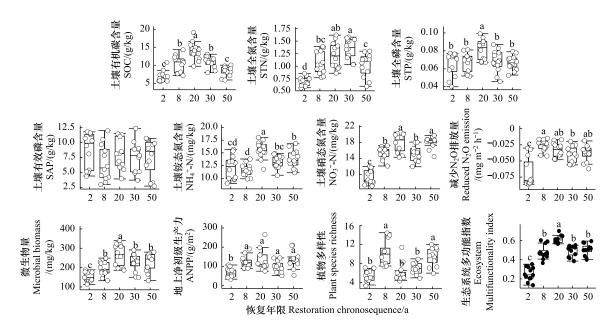


图 4 造林恢复年限对单一生态系统功能和生态系统多功能性的影响

Fig.4 Multiple single functions and ecosystem multifunctionality over afforestation restoration chronosequence

SOC:土壤有机碳含量 Soil organic carbon;STN:土壤全氮含量 Soil total nitrogen;STP:土壤总磷含量 Soil total phosphorus;SAP:土壤有效磷含量 Soil available phosphorus;NH₄⁺-N:土壤铵态氮含量;NO₃⁻-N:土壤硝态氮含量;Microbial biomass:微生物量;Reduced N₂O emission:N₂O 减排量;Plant species richness:植物多样性;ANPP:地上净初级生产力 Aboveground net primary production; EMF:生态系统多功能性指数 Ecosystem multifunctionality

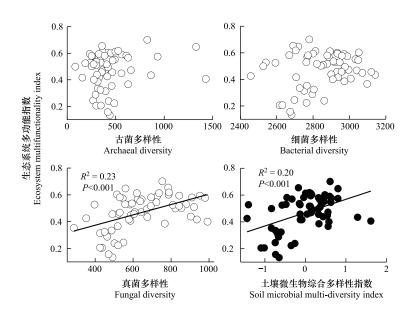


图 5 土壤古菌、细菌和真菌多样性和土壤微生物综合多样性指数与生态系统多功能性关系

Fig.5 Relationships of soil soil archaeal, bacterial, fungal diversity and multi-diversity with the ecosystem multifunctionality 黑色实线表示显著相关性

显著负相关关系,土壤粉粒含量与土壤微生物多样性、土壤微生物网络复杂性和 EMF 均呈显著正相关,土壤 K^+ 含量与土壤微生物网络复杂性和 EMF 存在显著正相关(P<0.05,图 7)。使用偏回归分析排除土壤因子的 影响后(图 8),土壤微生物多样性与 EMF 仍存在显著正向关联(P<0.001),但 R^2 从 0.20 下降到 0.16;排除土

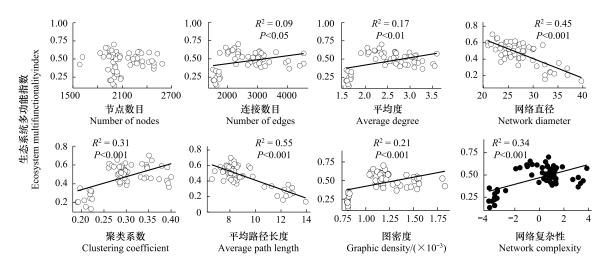


图 6 网络拓扑属性和微生物网络复杂性指数与生态系统多功能性的关系

Fig.6 Relationships of network topology properties and microbial network complexity with the eco system multifunctionality 黑色实线表示显著相关性

壤因子的影响后,土壤微生物共现网络复杂性与 EMF 仍存在极显著正相关关系(P<0.001),但 R^2 从 0.34 下降到 0.27。由此可见,土壤微生物共现网络复杂性对 EMF 的解释度仍优于土壤微生物多样性。

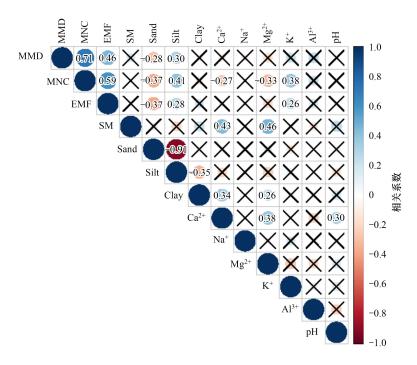


图 7 生态系统多功能性指数与土壤因子和微生物群落属性的相关性分析

Fig.7 Correlation analysis of ecosystem multifunctionality index with soil variables and microbial community attributes 图中标注的"×"表示不存在相关性,蓝色表示显著正相关(P<0.05),红色表示显著负相关(P<0.05),颜色深浅代表相关系数大小,EMF:生态系统多功能性指数 Ecosystem multifunctionality;MNC:微生物网络复杂性 Microbial network complexity;MMD:微生物多样性 Microbial multi-

diversity; SM:土壤含水量 Soil moisture; Clay:土壤黏粒含量 Soil clay content; Silt:土壤粉粒含量 Soil silt content; Sand:土壤砂粒含量 Soil sand content; Al³⁺:土壤铝离子含量 Soil Al³⁺ content; Ca²⁺:土壤钙离子含量 Soil Ca²⁺ content; Na⁺:土壤钠离子含量 Soil Na⁺ content; Mg²⁺:土壤镁离子含量 Soil Mg²⁺ content

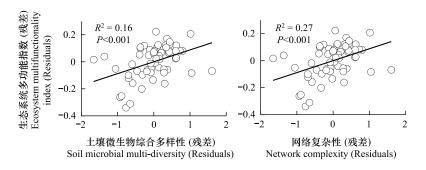


图 8 土壤微生物多样性及共现网络复杂性与生态系统多功能性的偏回归分析

Fig.8 Relationships of soil microbial multi-diversity and co-occurrence network complexity with the ecosystem multifunctionality based on partial least squares regression

黑色实线表示显著相关性

结构方程模型结果表明,SEM 解释了 EMF 差异的 41%(图 9)。土壤微生物共现网络复杂性直接正向影响 EMF;土壤微生物多样性和 K⁺含量通过促进土壤微生物共现网络复杂性间接影响 EMF;而砂粒和粉粒含量对 EMF 产生直接负效应。标准化总效应柱状图显示,土壤微生物网络复杂性和微生物多样性是促进 EMF的重要因素,而砂粒和粉粒含量是降低 EMF 的主要因素。综上,土壤因子和土壤微生物多样性通过驱动微生物共现网络复杂性促进 EMF。

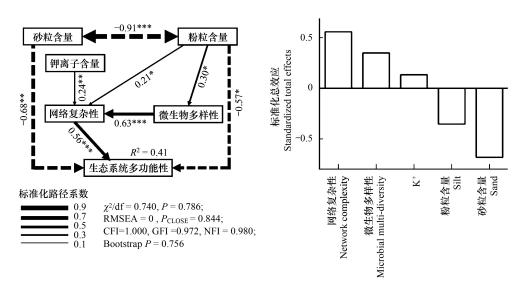


图 9 土壤因子、微生物群落属性预测生态系统多功能性的结构方程模型和标准化总效应柱状图

Fig.9 Structural equation model and standardized total effect histogram for predicting ecosystem multifunctionality by soil variables and microbial community attributes

结构方程模型描述了多种驱动因素对生态系统多功能性的影响;黑色实线和虚线箭头分别表示具有系统学意义的正相关和负相关,箭头的宽度与标准化路径系数的宽度成正比;箭头上标注的数字表示关系的效果大小,显著性水平:* P<0.05;** P<0.01;***P<0.001,左下为模型拟合信息;柱状图表示结构方程模型对微生物复杂性和多样性的标准化总效应(直接和间接效应之和)

3 讨论

造林恢复是改善生物多样性和生态系统功能的有效方法^[66]。荟萃分析表明,造林恢复对生物多样性的提高及退化生态系统结构和功能的恢复具有重要意义^[67-68]。本研究弥补了以往造林恢复研究仅考虑物种多样性和单一生态系统功能的局限,重点关注土壤微生物共现网络在维持土壤微生物群落与 EMF 关系的重要

作用。结果显示,土壤微生物网络复杂性对 EMF 的解释度高于微生物多样性,同时土壤微生物多样性通过促进微生物网络复杂性间接驱动 EMF。本研究可为黄土高原人工造林地生态恢复提供理论支持。

本研究发现,土壤 pH 随造林恢复进程下降可能是由于造林后,地上生物量的增加产生更多凋落物,土壤 微生物分解凋落物产生较多 CO_2 和有机酸,降低土壤 pH 值 $^{[69]}$ 。土壤粉粒含量在造林后显著增加,土壤砂粒含量显著减少,该结果与 Zhang 等 $^{[70]}$ 研究一致,植被可降低林下风速,土壤颗粒输送的距离缩短,通过尘土截留沉积在植物周围,进而导致土壤表层粉粒含量增加 $^{[71]}$ 。土壤含水量呈现先增加后下降的趋势,造林恢复的第8年土壤含水量达到最大值。土壤水分主要受植被和土壤蒸发等因素影响 $^{[72-74]}$,造林恢复前期,植被对地表的覆盖,减少了表层水分的蒸发,土壤含水量含量增加;但随着造林恢复年限的增加,人工刺槐林通过蒸腾作用消耗大量土壤水分,且黄土高原地处半干旱地区,降水不足,导致恢复后期林地土壤含水量下降。土壤 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 含量显著降低,表明人工刺槐林生长过程中消耗了大量 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ,导致土壤中 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 含量。土壤 K^+ 含量显著升高,原因可能是造林后,地上植被增加,植物凋落物分解增加,进而促进了土壤中 K^+ 的积累。同时,恢复过程中土壤 E0 的下降和有机酸含量增加,也促使含钾矿物中钾的释放,因此导致了土壤 E1 以上,这是增加E2 。

随着造林恢复年限的增加,研究区 EMF 在造林初期显著增加,造林恢复的第 20 年达到最高值后显著下 降,表明黄土高原地区,造林对 EMF 的恢复不能产生长期的积极影响。该研究发现不同土壤微生物类群,其 多样性恢复模式存在较大差异。土壤古菌多样性先显著增加后显著降低,细菌多样性呈总体上升的波动趋 势,真菌多样性随恢复年限的增加显著增加。不同微生物类群多样性的变化趋势不同可能是由于人工刺槐林 的生长改变了土壤理化性质,土壤环境的改变导致微生物类群多样性发生改变,另外根系分泌物影响土壤微 生物类群多样性[79]。我们的研究发现土壤微生物综合多样性指数先显著增加,在第8年达到最大值后显著 下降,表明该研究区造林恢复不能对土壤微生物多样性产生持续的积极影响。原因可能是在造林恢复前期, 丰富的资源生态位的促进土壤微生物多样性的增加,但在造林恢复后期,土壤水分含量降低,土壤 Ca²⁺和 Mg2+含量持续下降影响土壤团聚体的形成,土壤养分减少,种间竞争增多等原因抑制了土壤微生物多样性的 增加[80-82]。本研究中土壤真菌多样性与 EMF 呈现正相关关系,而古菌和细菌多样性与 EMF 无显著相关性, 表明土壤微生物多样性与 EMF 的关系在微生物类群间存在差异[17]。原因可能是真菌群落更具耐旱性,在半 干旱环境下,高的土壤真菌多样性可通过促进有机物分解,提高土壤养分供应和资源分配,从而促进 EMF[49]。 土壤微生物综合多样性与 EMF 表现为显著正相关,表明土壤微生物多样性与 EMF 密切相关。但土壤微生物 综合多样性指数对 EMF 的解释度低于真菌多样性,可能是土壤微生物类群间存在的抑制作用影响了微生物 综合多样性与 EMF 的关系[83]。控制土壤因子后,土壤微生物多样性与生态系统多功能之间正相关依然存 在,但关系变得相对微弱,这一结果与 Chen 等[33]结果相似,表明造林恢复过程中,环境因素的改变会影响土 壤微生物多样性与 EMF 的关系。

本研究发现土壤微生物共现网络复杂性随造林恢复进程表现为前期显著增加,在第8年微生物共现网络复杂性达到最大值后下降,表明该区域内造林恢复不能对土壤微生物共现网络复杂性产生长期的积极影响。首先,土壤微生物的生态网络受土壤非生物因素调节[84],土壤含水量是影响土壤微生物群落结构的重要因子[85],de Vries等[86]指出干旱会降低微生物的抗逆性,致使土壤微生物网络复杂性下降。本研究发现长期造林会导致土壤含水量降低,导致造林恢复后期土壤微生物共现网络复杂性显著下降。其次造林恢复过程中,土壤微生物群落演替能够影响微生物类群间相互作用,造林恢复前期,微生物物种间存在紧密共存的关系,并且演替前期的环境条件能够促进多个生态位的产生,而后期群落内部存在生态位竞争导致微生物网络复杂性下降[87]。另外随造林恢复年限的增加,土壤微生物群落组成改变,引起类群间的相互作用改变,进而影响土壤微生物生态网络的复杂性[88]。本研究发现土壤微生物网络复杂性与 EMF 显著正相关,排除同时影响微生物网络复杂性与 EMF 的土壤因子后,两者关系仍然存在显著正相关关系,且土壤微生物网络复杂性与 EMF 的关联较多样性更紧密。以上结果说明造林恢复生态系统中,土壤微生物对生态系统功能的恢复不是共存个

体的简单相加,而是通过土壤微生物类群间相互作用促进 EMF 的恢复^[33]。不同土壤微生物类群在促进多种生态过程和生态系统功能中所发挥的作用不同,这些微生物类群通过相互作用可提高养分循环和能量流动效率,而较高的微生物网络复杂性意味着不同微生物类群协同关系更紧密,从而提高资源利用效率和生物代谢速度,进一步促进更高水平的 EMF^[43,89—91]。因此,在生态恢复过程中,关注土壤微生物类群网络复杂性可更好的表征 EMF 的恢复。

尽管土壤微生物的网络复杂性对 EMF 的解释度高于多样性,但我们不能低估土壤微生物多样性对 EMF 的重要意义。一方面,微生物可以在几个小时到几天内由不活跃状态迅速转变为活跃状态,并且根据环境变化产生不同的响应,因此评估土壤微生物多样性对研究生态系统功能至关重要^[92];另一方面,土壤微生物综合多样性与微生物网络复杂性密切相关,土壤微生物群落多样性是形成微生物网络的基础,对微生物网络的功能影响极为重要^[32]。SEM 进一步表明土壤微生物多样性通过土壤微生物共现网络复杂性间接正向影响EMF。此外,土壤质地也是影响 EMF 的重要土壤因子。前人研究表明土壤质地可通过维持碳固存,改变养分利用有效性,从而改变土壤生物群落^[93—94],进而影响 EMF。较高的土壤砂粒含量会导致土壤水分可利用性降低,养分流失,微生物胞外酶活性降低,从而影响有机物的分解,降低土壤养分含量,进而降低 EMF^[95]。虽然土壤粉粒含量增加有利于改善土壤结构,促进土壤有机质的积累^[96],并且有利于土壤微生物多样性的提高和群落间相互作用^[94],但土壤微生物生长需要消耗大量的土壤养分^[55],因而可能导致土壤养分贫瘠,进而对EMF 产生不利影响。

本结果表明土壤质地是影响造林修复生态系统功能的重要因素,土壤微生物多样性作为土壤微生物群落间相互作用的基础,通过促进土壤微生物类群间的生态关联提高土壤微生物群落的网络复杂性,间接驱动造林生态系统功能的恢复^[97]。尽管本研究分析了造林恢复年限对多个土壤理化性状、土壤微生物群落属性和EMF的影响,但研究区域微气候、地形地势和植被差异也可能是影响土壤微生物群落特征和EMF的重要因素,因此在未来研究中,可以补充微气候、地形地势和植被差异等方面以综合分析土壤微生物群落属性与生态系统功能的关系。

4 结论

本研究揭示了造林恢复对黄土高原地区土壤微生物多样性、微生物共现网络复杂性和 EMF 的影响,探究了土壤微生物群落与 EMF 的关系。随造林恢复年限的增加,土壤微生物多样性、微生物网络复杂性和 EMF 均表现为显著增加后下降的趋势,表明长期造林不能对黄土高原退化生态系统的修复作用产生持续的积极影响。土壤微生物多样性和微生物共现网络复杂性与 EMF 均存在显著正相关关系,但土壤微生物共现网络复杂性对 EMF 的解释度更高,表明微生物网络复杂性能够更好地预测 EMF。而且土壤微生物多样性主要通过微生物共现网络复杂性间接驱动 EMF。因此,生态修复系统应关注土壤微生物彼此间相互作用关系的恢复,同时人工刺槐林进入成熟期后,应采取间伐改造、伐后更新、补栽灌木等修复措施,以实现黄土高原造林修复的持续发展。

参考文献(References):

- [1] Newbold T, Hudson L N, Hill S L L, Contu S, Lysenko I, Senior R A, Börger L, Bennett D J, Choimes A, Collen B, Day J, De Palma A, Díaz S, Echeverria-Londoño S, Edgar M J, Feldman A, Garon M, Harrison M L K, Alhusseini T, Ingram D J, Itescu Y, Kattge J, Kemp V, Kirkpatrick L, Kleyer M, Correia D L P, Martin C D, Shai M R, Novosolov M, Yuan P, Phillips H R P, Purves D W, Robinson A, Simpson J, Tuck S L, Weiher E, White H J, Ewers R M, Mace G M, Scharlemann J P W, Purvis A. Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. Nature, 2015, 520(7545): 45-50.
- [2] Sun WY, Song XY, MuXM, Gao P, Wang F, Zhao GJ. Spatiotemporal vegetation cover variations associated with climate change and ecological restoration in the Loess Plateau. Agricultural and Forest Meteorology, 2015, 209/210: 87-99.
- [3] Emmett Duffy J. Why biodiversity is important to the functioning of real-world ecosystems. Frontiers in Ecology and the Environment, 2009, 7(8): 437-444.

- [4] Allan E, Manning P, Alt F, Binkenstein J, Blaser S, Blüthgen N, Böhm S, Grassein F, Hölzel N, Klaus V H, Kleinebecker T, Morris E K, Oelmann Y, Prati D, Renner S C, Rillig M C, Schaefer M, Schloter M, Schmitt B, Schöning I, Schrumpf M, Solly E, Sorkau E, Steckel J, Steffen-Dewenter I, Stempfhuber B, Tschapka M, Weiner C N, Weisser W W, Werner M, Westphal C, Wilcke W, Fischer M. Land use intensification alters ecosystem multifunctionality via loss of biodiversity and changes to functional composition. Ecology Letters, 2015, 18(8): 834-843.
- [5] Yin R, Deng H, Wang H L, Zhang B. Vegetation type affects soil enzyme activities and microbial functional diversity following re-vegetation of a severely eroded red soil in sub-tropical China. CATENA, 2014, 115; 96-103.
- [6] Chen Q, Long C Y, Chen J W, Cheng X L. Differential response of soil CO₂, CH₄, and N₂O emissions to edaphic properties and microbial attributes following afforestation in central China. Global Change Biology, 2021, 27(21): 5657-5669.
- [7] Huang HY, Tian D, Zhou LH, SuHJ, MaSH, FengYH, TangZY, ZhuJL, JiCJ, FangJY. Effects of afforestation on soil microbial diversity and enzyme activity: a meta-analysis. Geoderma, 2022, 423: 115961.
- [8] Avidano L, Gamalero E, Cossa G P, Carraro E. Characterization of soil health in an Italian polluted site by using microorganisms as bioindicators. Applied Soil Ecology, 2005, 30(1): 21-33.
- [9] 王钰祺,任玉蓉,廖安邦,董倩,刘茂松. 盐城滨海滩涂湿地典型植物群落土壤微生物组成与结构特征. 生态学报, 2023, 43(6): 2336-2347.
- [10] Harris J A. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration. European Journal of Soil Science, 2003, 54(4): 801-808
- [11] Barrios E. Soil biota, ecosystem services and land productivity. Ecological Economics, 2007, 64(2): 269-285.
- [12] Lavelle P, Decaëns T, Aubert M, Barot S, Blouin M, Bureau F, Margerie P, Mora P, Rossi J P. Soil invertebrates and ecosystem services. European Journal of Soil Biology, 2006, 42: S3-S15.
- [13] Maestre F T, Quero J L, Gotelli N J, Escudero A, Ochoa V, Delgado-Baquerizo M, García-Gómez M, Bowker M A, Soliveres S, Escolar C, García-Palacios P, Berdugo M, Valencia E, Gozalo B, Gallardo A, Aguilera L, Arredondo T, Blones J, Boeken B, Bran D, Conceição A A, Cabrera O, Chaieb M, Derak M, Eldridge D J, Espinosa C I, Florentino A, Gaitán J, Gatica M G, Ghiloufi W, Gómez-González S, Gutiérrez J R, Hernández R M, Huang X W, Huber-Sannwald E, Jankju M, Miriti M, Monerris J, Mau R L, Morici E, Naseri K, Ospina A, Polo V, Prina A, Pucheta E, Ramírez-Collantes D A, Romão R, Tighe M, Torres-Díaz C, Val J, Veiga J P, Wang D L, Zaady E. Plant species richness and ecosystem multifunctionality in global drylands. Science, 2012, 335(6065): 214-218.
- [14] Hector A, Bagchi R. Biodiversity and ecosystem multifunctionality. Nature, 2007, 448(7150): 188-190.
- [15] Wagg C, Bender S F, Widmer F, van der Heijden M G A. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(14): 5266-5270.
- [16] Miki T, Yokokawa T, Matsui K. Biodiversity and multifunctionality in a microbial community: a novel theoretical approach to quantify functional redundancy. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2014, 281(1776): 20132498.
- [17] Jing X, Sanders N J, Shi Y, Chu H Y, Classen A T, Zhao K, Chen L T, Shi Y, Jiang Y X, He J S. The links between ecosystem multifunctionality and above- and belowground biodiversity are mediated by climate. Nature Communications, 2015, 6: 8159.
- [18] Luo G, Rensing C, Chen H, Liu M, Wang M, Guo S, Ling N, Shen Q. Deciphering the associations between soil microbial diversity and ecosystem multifunctionality driven by long term fertilization management. Functional Ecology, 2018, 32(4): 1103-1116.
- [19] Montoya J M, Pimm S L, Solé R V. Ecological networks and their fragility. Nature, 2006, 442(7100): 259-264.
- [20] Fuhrman J A. Microbial community structure and its functional implications. Nature, 2009, 459(7244): 193-199.
- [21] Zhou J Z, Deng Y, Luo F, He Z L, Tu Q C, Zhi X Y. Functional molecular ecological networks. mBio, 2010, 1(4): e00169-e00110.
- [22] 万凌琳, 陈芷凡, 郭佳, 佟立辉, 任丽娟, 韩博平, 吴庆龙. 生物共现网络原理及其在淡水生态系统评估中的应用. 湖泊科学, 2022, 34 (6): 1765-1789.
- [23] Li D, Ni H W, Jiao S, Lu Y H, Zhou J Z, Sun B, Liang Y T. Coexistence patterns of soil methanogens are closely tied to methane generation and community assembly in rice paddies. Microbiome, 2021, 9(1): 20.
- [24] Kara E L, Hanson P C, Hu Y H, Winslow L, McMahon K D. A decade of seasonal dynamics and co-occurrences within freshwater bacterioplankton communities from eutrophic Lake Mendota, WI, USA. The ISME Journal, 2013, 7(3): 680-684.
- [25] Cram J A, Xia L C, Needham D M, Sachdeva R, Sun F Z, Fuhrman J A. Cross-depth analysis of marine bacterial networks suggests downward propagation of temporal changes. The ISME Journal, 2015, 9(12); 2573-2586.
- [26] Ling N, Zhu C, Xue C, Chen H, Duan Y H, Peng C, Guo S W, Shen Q R. Insight into how organic amendments can shape the soil microbiome in long-term field experiments as revealed by network analysis. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 99: 137-149.
- [27] Faust K, Sathirapongsasuti J F, Izard J, Segata N, Gevers D, Raes J, Huttenhower C. Microbial co-occurrence relationships in the human

- microbiome. PLoS Computational Biology, 2012, 8(7): e1002606.
- [28] Freilich M A, Wieters E, Broitman B R, Marquet P A, Navarrete S A. Species co-occurrence networks; can they reveal trophic and non-trophic interactions in ecological communities? Ecology, 2018, 99(3); 690-699.
- [29] Friedman J, Alm E J. Inferring correlation networks from genomic survey data. PLoS Computational Biology, 2012, 8(9): e1002687.
- [30] Barberán A, Bates S T, Casamayor E O, Fierer N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities. The ISME Journal, 2012, 6(2): 343-351.
- [31] Banerjee S, Schlaeppi K, van der Heijden M G A. Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16(9): 567-576.
- [32] Chen W Q, Wang J Y, Chen X, Meng Z X, Xu R, Duoji D Z, Zhang J H, He J, Wang Z G, Chen J, Liu K X, Hu T M, Zhang Y J. Soil microbial network complexity predicts ecosystem function along elevation gradients on the Tibetan Plateau. Soil Biology and Biochemistry, 2022, 172 · 108766.
- [33] 张君红,王健宇,孟泽昕,何佳,董政宏,刘凯茜,陈文青.土壤微生物多样性通过共现网络复杂性表征高寒草甸生态系统多功能性.生态学报,2022,42(7);2542-2558.
- [34] Jia He, Junhong Zhang, Jianyu Wang, Zhenghong Dong, Zexin Meng, Ran Xu, Yongbiao Ji, Yuyu Li, Jun Chen, Xuyang Qi, Xinsheng Wang, Xiuting Li, Xinwen Li, Tieti Ha, Wenqing Chen, Natural restoration enhances soil multitrophic network complexity and ecosystem functions in the Loess Plateau, Catena, 2023, 226: 107059.
- [35] Chen S P, Wang W T, Xu W T, Wang Y, Wan H W, Chen D M, Tang Z Y, Tang X L, Zhou G Y, Xie Z Q, Zhou D W, Shangguan Z P, Huang J H, He J S, Wang Y F, Sheng J D, Tang L S, Li X R, Dong M, Wu Y, Wang Q F, Wang Z H, Wu J G, Chapin F S 3rd, Bai Y F. Plant diversity enhances productivity and soil carbon storage. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(16): 4027-4032.
- [36] Chen W Q, Xu R, Chen J, Yuan X P, Zhou L, Tan T Y, Fan J R, Zhang Y J, Hu T M. Consistent responses of surface- and subsurface soil fungal diversity to N enrichment are mediated differently by acidification and plant community in a semi-arid grassland. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 127: 110-119.
- [37] Kettler T A, Doran J W, Gilbert T L. Simplified method for soil particle-size determination to accompany soil-quality analyses. Soil Science Society of America Journal, 2001, 65(3): 849-852.
- [38] Jiao S, Chen W M, Wang J L, Du N N, Li Q P, Wei G H. Soil microbiomes with distinct assemblies through vertical soil profiles drive the cycling of multiple nutrients in reforested ecosystems. Microbiome, 2018, 6(1): 146.
- [39] Callahan B J, McMurdie P J, Rosen M J, Han A W, Johnson A J A, Holmes S P. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. Nature Methods, 2016, 13(7): 581-583.
- [40] Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. EMBnet Journal, 2011, 17(1): 10.
- [41] 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.
- [42] Delgado-Baquerizo M, Reich P B, Trivedi C, Eldridge D J, Abades S, Alfaro F D, Bastida F, Berhe A A, Cutler N A, Gallardo A, García-Velázquez L, Hart S C, Hayes P E, He J Z, Hseu Z Y, Hu H W, Kirchmair M, Neuhauser S, Pérez C A, Reed S C, Santos F, Sullivan B W, Trivedi P, Wang J T, Weber-Grullon L, Williams M A, Singh B K. Multiple elements of soil biodiversity drive ecosystem functions across biomes. Nature Ecology & Evolution, 2020, 4(2): 210-220.
- [43] Ma B, Wang Y L, Ye S D, Liu S, Stirling E, Gilbert J, Faust K, Knight R, Jansson J, Cardona C, Röttjers L, Xu J M. Earth microbial co-occurrence network reveals interconnection pattern across microbiomes. Microbiome, 2020, 8(1): 82.
- [44] Poole W, Gibbs D L, Shmulevich I, Bernard B, Knijnenburg T A. Combining dependent P-values with an empirical adaptation of Brown's method. Bioinformatics, 2016, 32(17); i430-i436.
- [45] Benjamini Y, Krieger A M, Yekutieli D. Adaptive linear step-up procedures that control the false discovery rate. Biometrika, 2006, 93(3): 491-507.
- [46] Jiao S, Lu Y, Wei G, Soil multitrophic network complexity enhances the link between biodiversity and multifunctionality in agricultural systems. Global Change Biology., 2022, 28(1): 140-153.
- [47] Newman M E J. Modularity and community structure in networks. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America., 2006, 103(23): 8577-8582.
- [48] Ma B, Wang H Z, Dsouza M, Lou J, He Y, Dai Z M, Brookes P C, Xu J M, Gilbert J A. Geographic patterns of co-occurrence network topological features for soil microbiota at continental scale in Eastern China. The ISME Journal, 2016, 10(8): 1891-1901.
- [49] Hu W G, Ran J Z, Dong L W, Du Q J, Ji M F, Yao S R, Sun Y, Gong C M, Hou Q Q, Gong H Y, Chen R F, Lu J L, Xie S B, Wang Z Q,

- Huang H, Li X W, Xiong J L, Xia R, Wei M H, Zhao D M, Zhang Y H, Li J H, Yang H X, Wang X T, Deng Y, Sun Y, Li H L, Zhang L, Chu Q P, Li X W, Aqeel M, Manan A, Akram M A, Liu X H, Li R, Li F, Hou C, Liu J Q, He J S, An L Z, Bardgett R D, Schmid B, Deng J M. Aridity-driven shift in biodiversity-soil multifunctionality relationships. Nature Communications, 2021, 12: 5350.
- [50] 高壮壮, 刘海军, 张智郡, 唐晓培. 不同质地条件下土壤表层温度与土壤蒸发量的关系研究. 灌溉排水学报, 2019, 38(9) : 42-48.
- [51] Cai J P, Luo W T, Liu H Y, Feng X, Zhang Y Y, Wang R Z, Xu Z W, Zhang Y G, Jiang Y. Precipitation-mediated responses of soil acid buffering capacity to long-term nitrogen addition in a semi-arid grassland. Atmospheric Environment, 2017, 170; 312-318.
- [52] 李青峰, 邢旭光, 马孝义. 盐基离子对土壤持水及收缩特性的影响. 干旱地区农业研究, 2018, 36(2): 107-112.
- [53] 郑金兴. 不同树种造林对土壤盐基离子的影响. 林业资源管理, 2018(6): 111-116.
- [54] Seaton F M, George P B L, Lebron I, Jones D L, Creer S, Robinson D A. Soil textural heterogeneity impacts bacterial but not fungal diversity. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 144: 107766.
- [55] Chialva M, Ghignone S, Cozzi P, Lazzari B, Bonfante P, Abbruscato P, Lumini E. Water management and phenology influence the root-associated rice field microbiota. FEMS Microbiology Ecology, 2020, 96(9): fiaa146.
- [56] Owojori O J, Reinecke A J, Voua-Otomo P, Reinecke S A. Comparative study of the effects of salinity on life-cycle parameters of four soil-dwelling species (Folsomia candida, Enchytraeus doerjesi, Eisenia fetida and Aporrectodea caliginosa). Pedobiologia, 2009, 52(6): 351-360.
- [57] Jeanbille M, Buée M, Bach C, Cébron A, Frey-Klett P, Turpault M P, Uroz S. Soil parameters drive the structure, diversity and metabolic potentials of the bacterial communities across temperate beech forest soil sequences. Microbial Ecology, 2016, 71(2): 482-493.
- [58] Chen W Q, Wang J Y, Meng Z X, Xu R, Chen J, Zhang Y J, Hu T M. Fertility-related interplay between fungal guilds underlies plant richness productivity relationships in natural grasslands. New Phytologist, 2020, 226(4): 1129-1143.
- [59] Moreno-Mateos D, Alberdi A, Morriën E, van der Putten W H, Rodríguez-Uña A, Montoya D. The long-term restoration of ecosystem complexity. Nature Ecology & Evolution, 2020, 4(5): 676-685.
- [60] 郑佳华, 赵萌莉, 王琪, 张峰, 张彬, 张军. 不同利用方式对大针茅草原生态系统多功能性的影响. 草地学报, 2022, 30(5): 1054-1062.
- [61] 李保杰,朱江,陈少祥,王腾,陈浩,周生路,吴绍华.变化环境下土壤生物多样性潜在威胁与影响因素.水土保持研究,2015,22(6):354-360.
- [62] Hong S B, Piao S L, Chen A P, Liu Y W, Liu L L, Peng S S, Sardans J, Sun Y, Peñuelas J, Zeng H. Afforestation neutralizes soil pH. Nature Communications, 2018, 9: 520.
- [63] Berry D, Widder S. Deciphering microbial interactions and detecting keystone species with co-occurrence networks. Frontiers in Microbiology, 2014 5, 219
- [64] Bardgett R D, van der Putten W H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. Nature, 2014, 515(7528): 505-511.
- [65] Schermelleh-engel K, Moosbrugger H, Müller H. Evaluating the fit of structural equation models: tests of significance and descriptive goodness-of-fit measures. Methods of Psychological Research, 2003, 8(2): 23-74.
- [66] Crouzeilles R, Ferreira M S, Chazdon R L, Lindenmayer D B, Sansevero J B B, Monteiro L, Iribarrem A, Latawiec A E, Strassburg B B N. Ecological restoration success is higher for natural regeneration than for active restoration in tropical forests. Science Advances, 2017, 3 (11): e1701345.
- [67] Meli P, Holl K, Rey Benayas J M, Jones H, Jones P C, Montoya D, Mateos D M. A global review of past land use, climate, and active vs. passive restoration effects on forest recovery. Plos One, 2017, 12(2): e171368.
- [68] Shimamoto C Y, Padial A A, da Rosa C M, Marques M C M. Restoration of ecosystem services in tropical forests: a global meta-analysis. PLoS One, 2018, 13(12): e0208523.
- [69] 程瑞梅, 肖文发, 王晓荣, 封晓辉, 王瑞丽. 三峡库区植被不同演替阶段的土壤养分特征. 林业科学, 2010, 46(9): 1-6.
- [70] Zhang Z H, Li X Y, Yang X T, Shi Y F, Zhang S Y, Jiang Z Y. Changes in soil properties following shrub encroachment in the semiarid Inner Mongolian grasslands of China. Soil Science and Plant Nutrition, 2020, 66; 369-378.
- [71] Wezel A, Rajot J L, Herbrig C. Influence of shrubs on soil characteristics and their function in Sahelian agro-ecosystems in semi-arid Niger. Journal of Arid Environments, 2000, 44(4): 383-398.
- [72] Brandt A C, Zhang Q Q, Lopez Caceres M L, Murayama H. Soil temperature and soil moisture dynamics in winter and spring under heavy snowfall conditions in North-Eastern Japan. Hydrological Processes, 2020, 34(15): 3235-3251.
- [73] 陈维梁,王树学,齐统祥,焦磊,王聪,买尔当·克依木,李宗善,傅伯杰.黄土丘陵区不同恢复年限人工刺槐林土壤水分时空动态及其时间稳定性.生态学报,2021,41(14):5643-5657.
- [74] 安文明,梁海斌,王聪,王帅,李宗善,吕一河,刘国华,傅伯杰.黄土高原阴/阳坡向林草土壤水分随退耕年限的变化特征.生态学报,2017,37(18):6120-6127.
- [75] Berthrong S, Jobbágy E, Jackson R B. A global meta-analysis of soil exchangeable cations, pH, carbon, and nitrogen with afforestation.

- Ecological, 2009, 19(8): 2228-2241.
- [76] Richter D D, Markewitz D, Wells C G, Allen H L, April R, Heine P R, Urrego B. Soil chemical change during three decades in an old-field loblolly pine (Pinus taeda L.) ecosystem. Ecology, 1994, 75(5): 1463-1473.
- [77] 王瑾, 李小坤, 鲁剑巍, 王筝, 占丽平. 不同酸提取条件下几种含钾矿物中钾释放动力学研究. 中国农业科学, 2012, 45(22):
- [78] 李露露,李婷,郎山鑫,魏巍,缪利,李智平,席铫.植茶年限降低土壤团聚体稳定性并促进大团聚体中钾素释放.植物营养与肥料学报,2020,26(7):1188-1197.
- [79] 胡婵娟,郭雷.植被恢复的生态效应研究进展[J].生态环境学报,2012,21(09):1640-1646.
- [80] Ortiz-Álvarez R, Fierer N, de los Ríos A, Casamayor E O, Barberán A. Consistent changes in the taxonomic structure and functional attributes of bacterial communities during primary succession. The ISME Journal, 2018, 12(7): 1658-1667.
- [81] 王纯, 刘兴土, 仝川. 盐度对滨海湿地土壤碳库组分及稳定性的影响. 地理科学, 2018, 38(5): 800-807.
- [82] Armstrong A, Valverde A, Ramond J B, Makhalanyane T P, Jansson J K, Hopkins D W, Aspray T J, Seely M, Trindade M I, Cowan D A. Temporal dynamics of hot desert microbial communities reveal structural and functional responses to water input. Scientific Reports, 2016, 6: 34434.
- [83] Wagg C, Schlaeppi K, Banerjee S, Kuramae E E, van der Heijden M G A. Fungal-bacterial diversity and microbiome complexity predict ecosystem functioning. Nature Communications, 2019, 10: 4841.
- [84] Hernandez D J, David A S, Menges E S, Searcy C A, Afkhami M E. Environmental stress destabilizes microbial networks. The ISME Journal, 2021, 15(6): 1722-1734.
- [85] Angel R, Soares M I M, Ungar E D, Gillor O. Biogeography of soil Archaea and bacteria along a steep precipitation gradient. The ISME Journal, 2010, 4(4): 553-563.
- [86] de Vries F T, Griffiths R I, Bailey M, Craig H, Girlanda M, Gweon H S, Hallin S, Kaisermann A, Keith A M, Kretzschmar M, Lemanceau P, Lumini E, Mason K E, Oliver A, Ostle N, Prosser J I, Thion C, Thomson B, Bardgett R D. Soil bacterial networks are less stable under drought than fungal networks. Nature Communications, 2018, 9: 3033.
- [87] Dini-Andreote F, de Cássia Pereira e Silva M, Triadó-Margarit X, Casamayor E O, van Elsas J D, Salles J F. Dynamics of bacterial community succession in a salt marsh chronosequence; evidences for temporal niche partitioning. The ISME Journal, 2014, 8(10): 1989-2001.
- [88] Colin F, Guimarães Paulo R, Sonia K, Nicolas L, Jane M, van der Putten Wim H, van Veen Frank J F, Elisa T. The ecological and evolutionary implications of merging different types of networks. Ecology Letters, 2011, 14(11): 1170-81.
- [89] Risch A C, Ochoa-Hueso R, van der Putten W H, Bump J K, Busse M D, Frey B, Gwiazdowicz D J, Page-Dumroese D S, Vandegehuchte M L, Zimmermann S, Schütz M. Size-dependent loss of aboveground animals differentially affects grassland ecosystem coupling and functions. Nature Communications, 2018, 9: 3684.
- [90] Fierer N. Embracing the unknown; disentangling the complexities of the soil microbiome. Nature Reviews Microbiology, 2017, 15(10); 579-590.
- [91] Morrien E, Hannula S E, Snoek L B, Helmsing N R, Zweers H, de Hollander M, Soto R L, Bouffaud M L, Buee M, Dimmers W, Duyts H, Geisen S, Girlanda M, Griffiths R I, Jorgensen H B, Jensen J, Plassart P, Redecker D, Schmelz R M, Schmidt O, Thomson B C, Tisserant E, Uroz S, Winding A, Bailey M J, Bonkowski M, Faber J H, Martin F, Lemanceau P, de Boer W, van Veen J A, van der Putten W H. 2017. Soil networks become more connected and take up more carbon as nature restoration progresses. Nature Communication, 8: 14349.
- [92] Blagodatskaya E, Kuzyakov Y. Active microorganisms in soil: critical review of estimation criteria and approaches. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 67: 192-211.
- [93] Hamarashid Mohammad A Othman Mohamed-Amin H Hussain N H. Effects of soil texture on chemical compositions, microbial populations and carbon mineralization in soil. The Egyptian Society of Experimental Biology, 2010, 1(6): 59-64.
- [94] Reynolds W D, Bowman B T, Drury C F, Tan C S, Lu X. Indicators of good soil physical quality: density and storage parameters. Geoderma, 2002, 110(1/2): 131-146.
- [95] Wang C W, Yu W Y, Ma L N, Ye X H, Erdenebileg E, Wang R Z, Huang Z Y, Indree T, Liu G F. Biotic and abiotic drivers of ecosystem multifunctionality: evidence from the semi-arid grasslands of Northern China. Science of the Total Environment, 2023, 887: 164158.
- [96] Yang Z P, Zhang Q, Wang Y L, Zhang J J, Chen M C. Spatial and temporal variability of soil properties under Caragana microphylla shrubs in the northwestern Shanxi Loess Plateau, China. Journal of Arid Environments, 2011, 75(6): 538-544.
- [97] Martiny A C, Treseder K, Pusch G. Phylogenetic conservatism of functional traits in microorganisms. The ISME Journal, 2013, 7(4): 830-838.