

DOI: 10.20103/j.stxb.202306071216

刘婷, 雷志刚, 陈述, 吴小红, 欧阳子都, 闫文德. 亚热带森林转换对土壤氮转化关键功能微生物群落的影响. 生态学报, 2024, 44(9): 3636-3647.
Liu T, Lei Z G, Chen S, Wu X H, Ouyang Z D, Yan W D. Effects of subtropical forest conversion on key functional microbial communities of soil nitrogen transformation. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(9): 3636-3647.

亚热带森林转换对土壤氮转化关键功能微生物群落的影响

刘 婷^{1,2,3,*}, 雷志刚⁴, 陈 述⁵, 吴小红^{1,2,3}, 欧阳子都⁶, 闫文德^{1,2,3}

1 中南林业科技大学, 生命科学与技术学院, 长沙 410004

2 南方林业生态应用技术国家工程实验室, 长沙 410004

3 湖南芦头森林生态系统国家定位观测研究站, 岳阳 414000

4 湖南省第三测绘院, 长沙 410007

5 南伊利诺伊大学卡本代尔分校, 地球系统与可持续发展学院, 美国 62901

6 中南林业科技大学, 理学院, 长沙 410004

摘要:近年来, 由于林地开发和商品林建设等原因, 我国亚热带地区大量天然林和次生林经皆伐改造为林分结构简单、树种单一的人工林。氮(N)素是维持森林植被生长和系统初级生产力的重要因子, 土壤微生物驱动了森林土壤 N 转化的关键过程。然而, 目前亚热带森林转换对土壤 N 转化微生物群落的影响仍不清晰。以湖南芦头森林生态系统国家定位观测研究站内典型次生林(CS)及由其转换而成的油茶(YC)、黄桃(HT)、杨梅(YM)和杉木(SM)四种人工林为研究对象, 采用实时荧光定量 PCR 和高通量测序等方法, 研究了各林分土壤性质、固 N 菌和氨氧化微生物功能基因丰度、群落特征及相互关系, 旨在探讨亚热带森林转换后土壤 N 转化关键过程(固 N 和氨氧化作用)的功能微生物群落变化及驱动因素。结果表明: 森林转换显著改变了土壤碳(C)、N 含量, 降低了土壤 *nifH* 基因丰度、固 N 菌和氨氧化细菌的群落 α 多样性, 但提高了氨氧化微生物 *amoA* 基因丰度和氨氧化古菌的群落 α 多样性; 并且, 森林转换通过改变各功能微生物优势菌群(如变形菌、蓝细菌、泉古菌和奇古菌等)的相对丰度, 显著影响了土壤固 N 菌和氨氧化微生物的群落组成; 冗余分析和结构方程模型表明, 土壤有机碳、全氮、铵态氮含量和 pH 是驱动土壤固 N 菌和氨氧化微生物群落变化的关键因素。森林转换后, 合理的施肥方式有利于人工林土壤固 N 菌和氨氧化微生物的群落恢复。研究结果为转换后单一人工林土壤养分恢复、生产力的提高和可持续经营提供了科学依据。

关键词:森林转换; 土壤氮转化; 固氮菌; 氨氧化古菌; 氨氧化细菌

Effects of subtropical forest conversion on key functional microbial communities of soil nitrogen transformation

LIU Ting^{1,2,3,*}, LEI Zhigang⁴, CHEN Shu⁵, WU Xiaohong^{1,2,3}, OUYANG Zidu⁶, YAN Wende^{1,2,3}

1 College of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

2 National Engineering Laboratory for Applied Technology of Forestry and Ecology in Southern China, Changsha 410004, China

3 Lutou National Station for Scientific Observation and Research of Forest Ecosystems, Yueyang 414000, China

4 The Third Surveying and Mapping Institute of Hunan province, Changsha 410007, China

5 School of Earth Systems and Sustainability, Southern Illinois University Carbondale, Illinois 62901, United States

6 College of Science, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

Abstract: In recent years, due to the development and construction of commercial forests, a large scale of natural and

基金项目:国家自然科学基金项目(U21A20187); 湖南省教育厅科学研究项目(22B0241); 长沙市自然科学基金项目(kq2208409); 中南林业科技大学引进人才科研启动基金项目(ZK2023YJ001)

收稿日期:2023-06-07; **网络出版日期:**2024-02-01

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lt19900501@163.com

secondary forests has been cleared and converted to monoculture plantations with simple stand structures in the subtropical regions of China. Nitrogen (N) is considered an important factor for maintaining the vegetation growth and primary productivity of forest systems, and soil microorganisms drive the key process of soil N transformation. However, the effects of subtropical forest conversion on microbial communities related to soil N transformation remain largely elusive. This paper aims to clarify the responses of microbial communities and their driving factors in the key processes of soil N transformation (N-fixation and ammonia oxidation) after subtropical forest conversion. Here, we used the real-time PCR and high-throughput sequencing technique, investigated the soil properties, function gene, community characteristics of N-fixing bacteria and ammonia oxidizers and their relationships in a secondary forest (CS) and four 5-year-old monoculture plantations, including *Camellia oleifera* (YC), *Amygdalus persica* (HT), *Myrica rubra* (YM), and *Cunninghamia lanceolata* (SM) in the Lutou National Station for Scientific Observation and Research of Forest Ecosystems in Hunan Province. The results indicated that forest conversion significantly changed the soil carbon (C), N contents, decreased the *nifH* gene abundance, the α -diversity of N-fixing bacteria and ammonia-oxidizing bacteria (AOB) communities, but increased the *amoA* gene abundances of the ammonia-oxidizing microorganisms, and the α -diversity of ammonia-oxidizing archaea (AOA) community. Moreover, forest conversion affected the composition of N-fixing bacteria and ammonia-oxidizers communities by altering the relative abundance of the dominant taxa, such as Proteobacteria, Cyanobacteria, Crenarchaeota and Thaumarchaeota. Lastly, redundancy analysis and structural equation modeling demonstrated that soil organic carbon (SOC), total nitrogen (TN), ammonium nitrogen ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) contents and pH were the key factors driving the variations in diversity and composition of soil N-fixing bacteria and ammonia-oxidizers communities. After forest conversion, reasonable fertilization was beneficial to the restoration of soil N-fixing bacteria and ammonia-oxidizers in monoculture plantation. In summary, the results provide a scientific basis for soil nutrient recovery, productivity improvement and sustainable management of monoculture plantations after subtropical forest conversion.

Key Words: forest conversion; soil nitrogen transformation; nitrogen-fixing bacteria; ammonia-oxidizing archaea; ammonia-oxidizing bacteria

我国亚热带森林是世界上分布最广、类型最丰富的森林,是我国“两屏三带”的重要组成部分和生态保护地。该地区以常绿阔叶林为地带性植被,次生林约占森林总面积的 62%,在保护生物多样性、改善生态环境和维持生态系统服务功能等方面发挥着至关重要的作用^[1]。然而,随着对粮食、油料和木材等经济产品需求的急剧增加,近年来该地区大面积天然次生林通过砍伐、火烧、炼山等方式被转换成林分结构简单、功能单一的人工林^[2]。土壤氮(N)素是植物生长所需的重要矿质元素,也是限制森林植被生长和系统初级生产力的关键因子^[3]。研究表明,森林转换会导致生物多样性降低,土壤肥力衰退和质量下降,土壤 N 素流失和有效性的降低^[4-6]。因此,亟需推进亚热带森林转换后土壤 N 素养分修复及其生化过程与机理的研究。

微生物在土壤 N 素循环中具有重要作用,驱动了固 N、氨化、硝化和反硝化等关键转化过程^[7]。生物固 N 是森林土壤 N 输入的主要来源,土壤固 N 微生物的群落结构和多样性直接影响了土壤固 N 速率和 N 素循环^[8]。硝化作用是调节土壤 N 素有效性的重要过程,其中由氨氧化微生物主导的氨氧化过程是限速步骤,也是决定硝化作用响应环境变化的关键环节^[9]。研究发现,森林转换会加速土壤碳(C)、N 养分流失,降低驱动 N 转化功能微生物丰度和代谢活性,减弱各 N 转化环节的耦合性,进而影响系统 N 素平衡^[10-11]。例如,Guo 等^[12]研究发现亚热带天然林向杉木(*Cunninghamia lanceolata*)人工林的转换降低了氨氧化微生物 *amoA* 和固 N 菌 *nifH* 基因丰度,但增加了反硝化菌 *nirS*、*nirK* 和 *nosZ* 的基因丰度。然而,目前只有少数研究试图调查土壤 N 转化功能微生物对森林转换的响应,且局限于功能基因的对比如^[12-13]。亚热带森林转换对土壤 N 转化及功能微生物群落的影响及区域特征仍不明确,特别是对驱动固 N 和氨氧化过程的微生物群落研究还尚待深入,需展开进一步研究。

因此,本研究针对亚热带地区大量次生林转换成单一人工林这一现状,选取湖南芦头森林生态系统国家定位观测研究站内典型次生林(CS)及由其转换而成的油茶(*Camellia oleifera*,YC)、黄桃(*Amygdalus persica*,HT)、杨梅(*Myrica rubra*,YM)和杉木(SM)四种人工林为研究对象,探讨天然次生林转换成单一人工林后,土壤N转化关键过程(固N和氨氧化作用)的功能微生物群落变化特征及驱动因素。研究结果对阐明亚热带地区森林转换后土壤N转化微生物的响应机制具有重要意义,可为转换后人工林土壤养分恢复和管理、生产力提高和可持续经营提供科学依据。

1 研究区与研究方法

1.1 研究地概况

试验地位于湖南省平江县芦头森林生态系统国家定位观测研究站(28.31°—28.38°N,113.51°—113.58°E),站内现有林地面积5040 hm²,森林覆盖率达94.2%。属于典型的亚热带季风气候,年平均气温15.8—19.6℃,年平均降水量为1450.8 mm。土壤以红壤、山地黄壤、黄棕壤为主。站内原有天然次生林为常绿针阔混交林,主要树种为:马尾松(*Pinus massoniana*)、木荷(*Schima superba*)、枫香(*Liquidambar formosana*)、青冈栎(*Cyclobalanopsis glauca*)和甜槠(*Castanopsis eyrei*)等^[14]。在2013年,站内大面积次生林经人工皆伐改造成油茶、黄桃、杨梅和杉木四种人工纯林。改造后,人工林中采用了翻垦、林下植被和凋落物去除、施肥等日常林业管理措施。其中,油茶林在每年4—5月施用硫酸钾复合矿物肥(N:P:K=1:1:2)163 kg hm⁻² a⁻¹,黄桃林在6—7月份施用硫酸钾复合矿物肥545 kg hm⁻² a⁻¹,9—10月份施用有机肥4356 kg hm⁻² a⁻¹,杨梅林在9月份施用有机肥4356 kg hm⁻² a⁻¹,杉木林无林业管理措施。

1.2 样地设置与样品采集

2018年3月,采用典型样地法在五个林分中(立地条件一致)各设置3个20×20 m²样地,各林分间的样地距离>200 m,重复样地间距离>20 m。2018年11月中旬,在去除土壤表面杂物与凋落物后,使用内径5 cm的土钻在每个样地内以五点混合取样法收集表层土壤(0—20 cm),均匀混合作为各样地复合样品,土样过筛去除掉石砾、根系等杂物后迅速带回实验室,共计15份。将每个土样分为三部分:一部分用于土壤酶活性、可溶性有机C、N的测定,于4℃低温储存;一部分用于土壤DNA提取、实时荧光定量PCR(RT-qPCR)和高通量测序,—80℃超低温储存;另一部分自然风干用于其他理化性质分析。

1.3 土壤理化性质与酶活性测定

土壤理化性质测定参考《土壤农化分析》第三版^[15]。土壤容重(BD)采用环刀法测定。土壤含水率(SWC)采用烘干法测定。土壤pH值采用电极法测定(水土比2.5:1)。土壤有机碳(SOC)采用重铬酸钾—浓硫酸滴定法测定。总氮(TN)采用半微量凯氏定氮法测定。可溶性有机碳(DOC)和有机氮(DON)采用0.5 mol/L硫酸钾(K₂SO₄)浸提后,使用总有机碳/总氮分析仪测定。铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N)用2 mol/L氯化钾(KCl)浸提后,使用流动分析仪测定。土壤全磷(TP)采用钼锑抗比色法测定。使用北京索莱宝生物技术有限公司生产的试剂盒,采用可见分光光度法测定土壤酸性蛋白酶(ACPT)、脲酶(UR)和谷氨酰胺酶(GLS)活性,具体方法按照试剂盒说明书进行操作。为减少实验误差,对每个样品进行了三次平行测量。各林分土壤理化性质见表1。

1.4 土壤DNA提取和功能基因实时荧光定量PCR测定

采用FAST DNA SPIN kit for soil试剂盒进行土壤总DNA的提取,经纯化和质检后,储存在-80℃冰箱中用于后续分析。采用RT-PCR方法,在ABI 7500 Real-time PCR仪上测定固N菌*nifH*基因、氨氧化古菌(Ammonia-oxidizing archaea, AOA)和氨氧化细菌(Ammonia-oxidizing bacteria, AOB) *amoA*基因拷贝数。定量PCR引物信息和反应条件及流程可见刘婷等^[16]。每个样品三次重复,荧光定量PCR扩增效率>100%。

1.5 氮转化微生物高通量测序及生物学信息分析

选取已提取的土壤样本DNA,采用由Invitrogen公司(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)合成的特异引物扩

增。土壤固 N 菌采用正一反向引物(*nifH*-F、*nifH*-R)进行扩增。AOA 和 AOB 分别使用正一反向引物(Arch-amoA-79F、Arch-amoA-479R)、(AOB-amoA-1F、AOB-amoA-2R)进行扩增。扩增结束后,混合后使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物,对回收产物进行纯化、检测和定量,使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 进行建库,通过 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序。

表 1 五种林分土壤理化性质

Table 1 Soil physico-chemical properties of five forest types

土壤性质 Soil properties	次生林 Secondary forest	油茶林 <i>Camellia oleifera</i>	黄桃林 <i>Amygdalus persica</i>	杨梅林 <i>Myrica rubra</i>	杉木林 <i>Cunninghamia lanceolata</i>
BD/(g/cm ³)	1.28±0.03c	1.39±0.01b	1.46±0.02a	1.44±0.01ab	1.43±0.01ab
SWC	0.21±0.01a	0.18±0.01b	0.16±0.01b	0.17±0.02b	0.17±0.01b
pH	4.75±0.11a	4.80±0.04a	5.06±0.07a	5.04±0.13a	4.77±0.04a
SOC/(g/kg)	50.17±0.67a	5.60±0.24d	12.94±0.12b	7.19±0.28c	8.46±0.66c
DOC/(mg/kg)	141.35±10.71a	78.20±0.57c	90.21±2.51bc	77.09±2.24bc	96.94±0.58c
TN/(g/kg)	2.60±0.30a	0.80±0.06b	1.32±0.11b	1.08±0.16b	1.09±0.13b
DON/(mg/kg)	129.93±14.94a	49.87±2.73b	66.20±5.62b	60.45±4.84b	61.15±3.28b
NH ₄ ⁺ -N/(mg/kg)	19.03±1.49a	7.89±0.15b	8.26±0.58b	7.09±0.42b	8.11±0.41b
NO ₃ ⁻ -N/(mg/kg)	0.83±0.09b	0.30±0.06c	0.41±0.01c	1.28±0.07c	0.41±0.01c
C/N	19.86±2.45a	7.08±0.40b	9.91±0.48b	6.99±0.87b	7.84±0.35b
TP/(g/kg)	0.23±0.01a	0.16±0.01b	0.23±0.01a	0.18±0.01b	0.17±0.01b
UR/(U/g)	940.52±10.02a	832.55±9.78c	879.61±27.13b	971.12±17.35a	783.93±6.47bc
GLS/(U/g)	61.37±1.72a	6.24±0.91e	24.75±2.98c	36.27±1.34b	15.29±0.64d
ACPT/(U/g)	0.14±0.02a	0.06±0.01b	0.04±0.01b	0.04±0.01b	0.08±0.01b

数据为平均值±标准差($n=3$),显著差异性用不同小写字母表示($P<0.05$);BD:容重 Bulk density;SWC:含水率 Soil water content;pH:氢离子浓度指数 Hydrogen ion concentration;SOC:有机碳 Soil organic carbon;DOC:可溶性有机碳 Dissolved organic carbon;TN:全氮 Total nitrogen;DON:可溶性有机氮 Dissolved organic nitrogen;NH₄⁺-N:铵态氮 Ammonium nitrogen;NO₃⁻-N:硝态氮 Nitrate nitrogen;C/N:碳氮比 Carbon-nitrogen ratio;TP:全磷 Total phosphorus;UR:脲酶 Urease;GLS:谷氨酰胺酶 Glutaminase;ACPT:酸性蛋白酶 Acid protease

采用 QIIME 软件对原始序列数据进行过滤、聚类 and 修剪,并去除嵌合体^[17]。经质检和降噪后,使用 FLASH 和 Usearch 软件对数据进行聚类,根据标准校对,得到基于 97% 相似度的操作分类单元 (Operational Taxonomic Unit, OTU) 序列^[18-19]。最后将序列与美国国家生物技术信息中心核酸序列数据库 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 进行比对和物种注释。

1.6 数据处理与分析

采用单因素方差分析和 Duncan 多重比较法($P<0.05$)分析五个林分土壤性质、N 转化微生物功能基因、多样性和菌群丰度的差异性。基于 OTU 数目,计算不同分类水平下物种的相对丰度,对比微生物群落组成差异。使用 Chao1 和 Shannon-Wiener 指数表征微生物群落 Alpha(α)多样性,并基于 Bray-curtis 距离的非度量多维尺度法 (Non-metric multidimensional scaling, NMDS) 计算群落 Beta(β)多样性,研究林分间土壤微生物的多样性和结构差异。采用冗余分析 (Redundancy analysis, RDA) 分析土壤性质对微生物群落的影响,分析前因子均采用 Log 函数法进行标准化转换,并使用蒙特卡洛置换检验分析土壤性质与群落的相关性。以微生物多样性 (Shannon-Wiener 指数)、基因丰度和土壤性质为指标,对原始数据进行正态分布检验和标准化处理 (Log 函数法) 后,通过 AMOS 软件建立结构方程模型 (Structure equation modeling, SEM),模型适配度的指标参照 Liu 等^[4]。运用 SPSS 25.0、R 语言软件对上述数据进行分析 and 作图处理。

2 结果与分析

2.1 土壤氮转化关键微生物功能基因丰度变化

森林转换后,土壤固 N 菌 *nifH* 基因丰度显著下降了 54% ($P<0.05$) (图 1)。人工林中, HT 和 SM 土壤

nifH 基因丰度显著高于 YC 和 YM ($P < 0.05$)。氨氧化微生物中,土壤 *amoA* 基因丰度随转换而增加(图 1)。四种人工林土壤 AOA *amoA* 基因丰度显著高于 CS ($P < 0.05$)。HT 土壤 AOB *amoA* 基因丰度显著高于其他四种林分 ($P < 0.05$)。

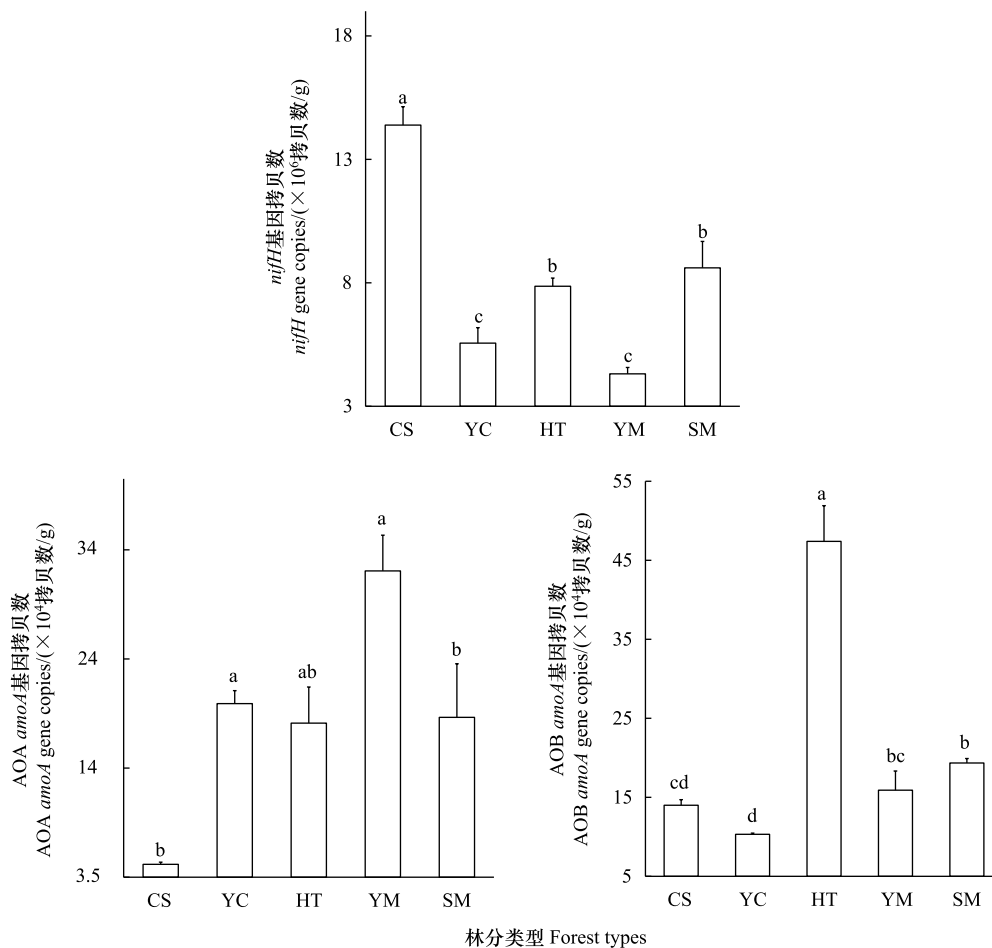


图 1 五种林分土壤氮转化关键微生物的功能基因丰度

Fig.1 Functional gene abundances of soil key N-transformation microorganisms in five forest types

差异显著性用不同字母表示 ($P < 0.05$); CS: 次生林, Secondary forest; YC: 油茶林 *Camellia oleifera* plantation; HT: 黄桃林 *Amygdalus persica* plantation; YM: 杨梅林 *Myrica rubra* plantation; SM: 杉木林 *Cunninghamia lanceolata* plantation

2.2 土壤氮转化功能微生物群落多样性和组成变化

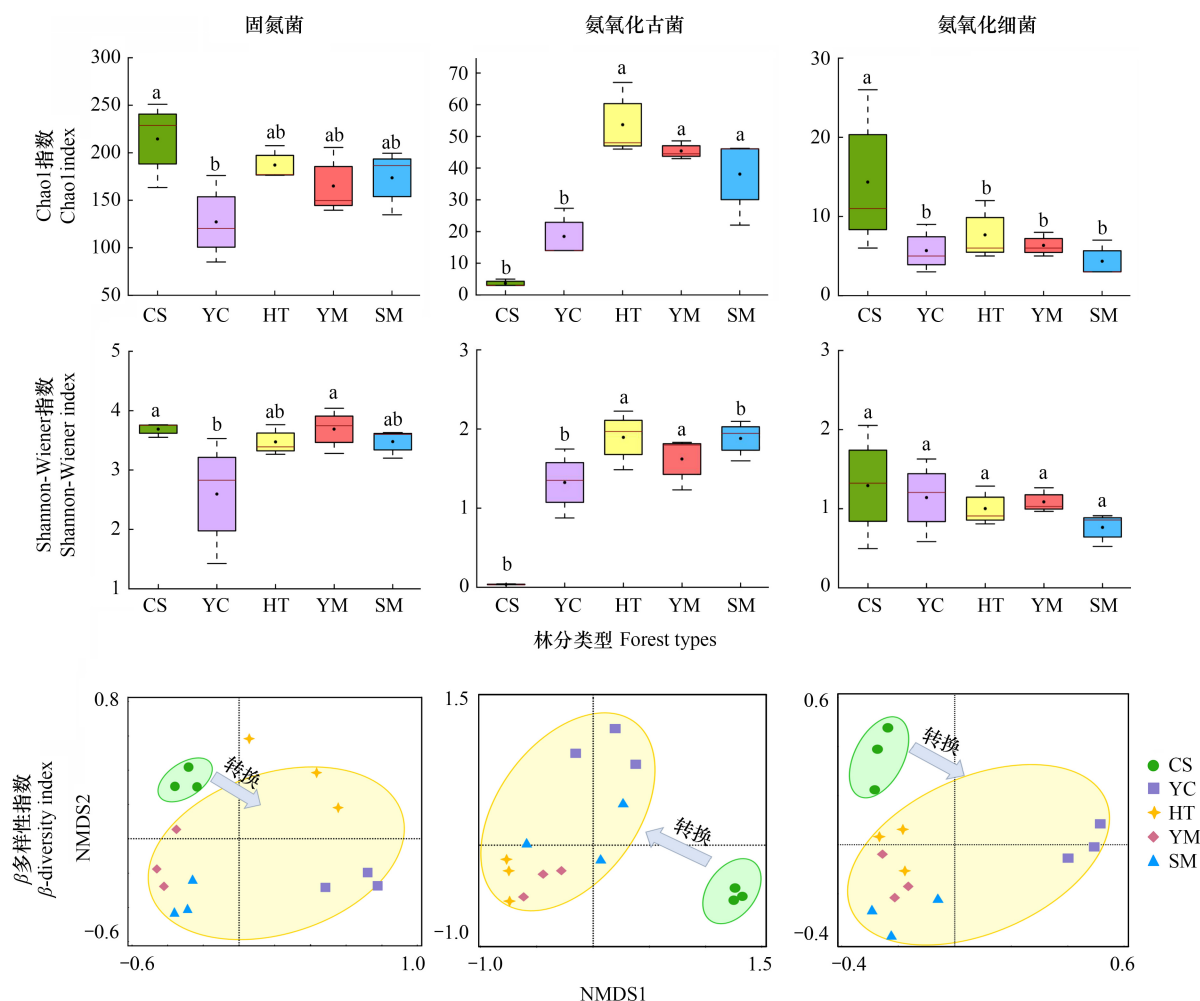
2.2.1 微生物群落多样性的变化

森林转换影响了土壤 N 转化功能微生物群落 α 多样性,尤其是氨氧化微生物(图 2)。固 N 菌群落多样性随转换而降低,Chao1 和 Shannon-Wiener 指数分别减少了 24%和 10%,在 YC 中尤为显著 ($P < 0.05$)。氨氧化微生物中,转换后 AOA 群落 α 多样性增加,Chao1 和 Shannon-Wiener 指数分别提高了 90%和 97%。而 AOB 群落 α 多样性减少,Chao1 和 Shannon-Wiener 指数分别减少了 22%和 58%。

群落 β 多样性表明,森林转换显著影响了土壤固 N 菌、AOA 和 AOB 群落结构(图 2)。CS 的固 N 菌群落分布于第二象限,明显分离于第一、三、四象限的四种人工林群落。人工林中,SM 和 YM 的固 N 菌群落结构较接近。氨氧化微生物中,CS 的 AOA 和 AOB 群落明显区分于四种人工林。人工林中,HT 和 YM 的 AOA 群落结构较接近,HT、YM 和 SM 的 AOB 群落结构较相似。

2.2.2 微生物群落组成的变化

五种林分中,土壤固 N 菌群落共鉴定出 5 个门和 22 个属类(图 3)。在门类水平,主要固 N 菌群为放线菌

图2 五种林分土壤氮转化微生物群落 α 和 β 多样性分析Fig.2 α and β diversities of soil N-transformation microbial communities in five forest types

箱体表示四分位区间,红线、黑点分别表示中间值和平均值;差异显著性用不同小写字母表($P < 0.05$);CS:次生林 Secondary forest;YC:油茶林 *Camellia oleifera* plantation;HT:黄桃林 *Amygdalus persica* plantation;YM:杨梅林 *Myrica rubra* plantation;SM:杉木林 *Cunninghamia lanceolata* plantation

(Actinobacteria)、变形菌 (Proteobacteria)、蓝细菌 (Cyanobacteria)、厚壁菌 (Firmicutes) 和疣微菌 (Verrucomicrobia)。其中,变形菌为优势菌群,约占 74%—91%。森林转换后,人工林中变形菌的相对丰度减少了 11%,放线菌和厚壁菌的相对丰度分别增加了 24%和 17%,蓝细菌增加了 5.9%(尤其在 YC 和 HT 中, $P < 0.05$),疣微菌在 YM 中增加了 11% ($P > 0.05$)。属水平上,优势菌群为慢生根瘤菌 (*Bradyrhizobium*)、伯克霍尔德菌 (*Burkholderia*)、红微菌 (*Rhodomicrobium*)、厌氧粘细菌 (*Anaeromyxobacter*) 和类芽孢杆菌 (*Paenibacillus*)。其中,厌氧粘细菌 ($P > 0.05$) 和类芽孢杆菌 ($P < 0.05$) 的丰度在人工林中减少,而其它三种菌群的相对丰度均有所增加,其中伯克霍尔德菌和红微菌在 YM 中显著增加 ($P < 0.05$)。

森林转换显著影响了土壤氨氧化微生物群落组成(图 4)。AOA 群落中,四种人工林 AOA 群落共有的 OTU 增加,群落组成更相似。五种林分中土壤 AOA 优势门是泉古菌 (Crenarchaeota, 占 1%—99%) 和奇古菌 (Thaumarchaeota, 占 0%—67%)。随着森林转换,人工林中泉古菌的相对丰度减少了 86% ($P < 0.05$),而奇古菌丰度急剧增加,如在 HT、YM 中分别增加了 67%和 62% ($P < 0.05$)。AOB 群落中,森林转换减少了 CS 中 85%的特有 OTU。AOB 优势门为变形菌,其丰度随转换减少了 26% ($P < 0.05$)。

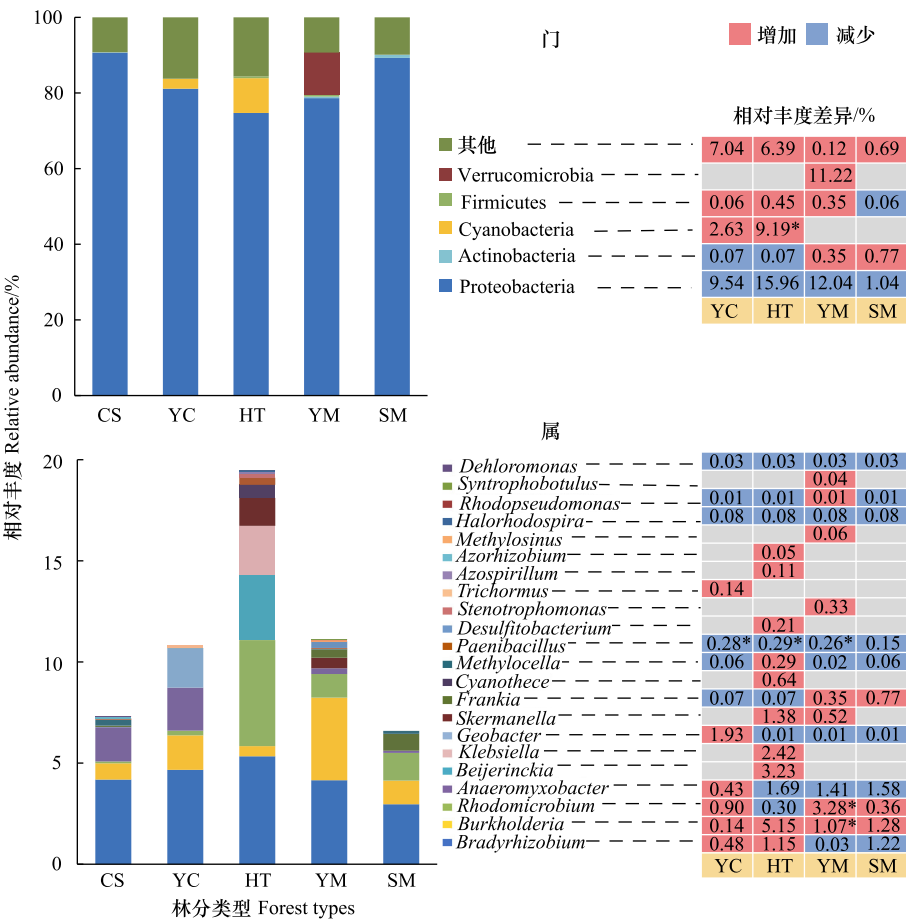


图3 五种林分土壤固氮菌群落组成变化

Fig.3 Changes in composition of soil nitrogen fixing bacteria community in the five forest types

左图为五种林分土壤固 N 菌群落门、属类(已鉴别出的 22 个)组成,右图为四种人工林较次生林的菌群相对丰度变化;数字代表丰度变化(%),* 代表差异性($P<0.05$);“Others”表示未命名菌群;CS:次生林 Secondary forest;YC:油茶林 *Camellia oleifera* plantation;HT:黄桃林 *Amygdalus persica* plantation;YM:杨梅林 *Myrica rubra* plantation;SM:杉木林 *Cunninghamia lanceolate* plantation

2.3 土壤性质与氮转化功能微生物群落的相关性

RDA 结果表明(图 5),土壤性质分别解释了固 N 菌、AOA 和 AOB 微生物群落差异的 68.4%、94.2% 和 49.3%,土壤 pH、C 和 N 含量是森林转换后三种微生物群落变化的主要影响因子。固 N 菌中,土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 SOC 是影响群落变化的主要因素,解释度分别为 14.3% 和 17.1% ($P<0.05$)。变形菌、放线菌与土壤 SOC、DON、DOC、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 呈正相关,蓝细菌与土壤 TP 呈正相关。氨氧化微生物中,土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 TN 是影响 AOA 群落的主要因素,解释度分别为 30.4% 和 20.5% ($P<0.05$)。泉古菌与土壤 SOC、DOC、DON、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 呈正相关,奇古菌与土壤 pH 呈正相关。土壤 pH 和 TN 是影响 AOB 群落的主要因素,解释度分别为 19.3% 和 16.5% ($P<0.05$)。变形菌与土壤 SWC、SOC、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、DON 呈正相关。

通过建立、拟合、评价和修正模型后,得到 N 转化微生物与土壤性质的 SEM 模型,适配检验指标均达到评价标准,即模型适配良好(表 2,图 6)。结果表明,森林转换后,土壤 SOC、TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 是影响固 N 菌和氨氧化微生物的关键因子,UR 和 GLS 是受影响的主要酶活性指标。土壤 SOC 对 AOB 基因丰度为正效应,而对 AOA 多样性为负效应。土壤 TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 对固 N 菌多样性和基因丰度均为正效应,而 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 对 AOA 多样性为负效应。固 N 菌多样性对土壤 UR、GLS 均为正效应,而 AOA 多样性对 UR 为负效应。

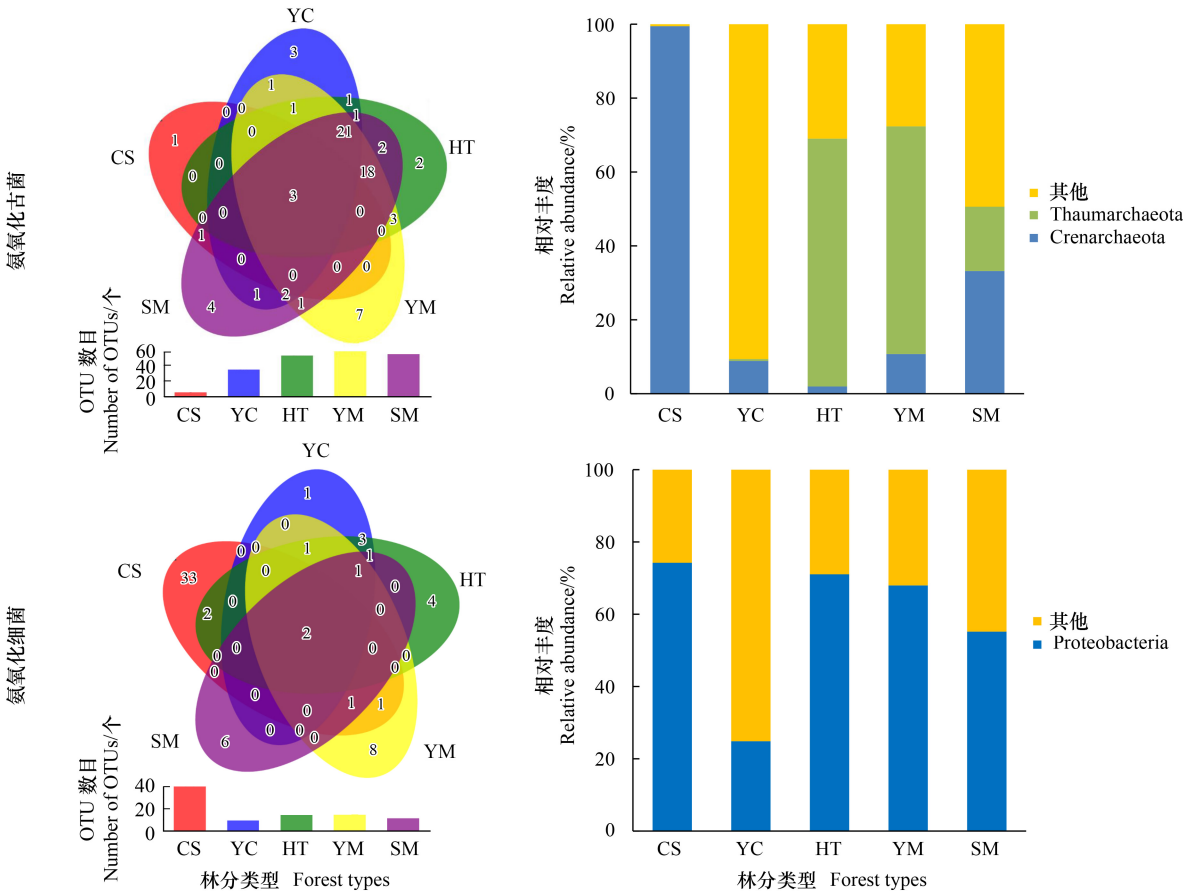


图 4 五种林分土壤氨氧化微生物群落组成

Fig.4 Composition of soil ammonia-oxidizers communities in five forest types

“Others”表示未命名菌群;CS:次生林 Secondary forest;YC:油茶林 *Camellia oleifera* plantation;HT:黄桃林 *Amygdalus persica* plantation;YM:杨梅林 *Myrica rubra* plantation;SM:杉木林 *Cunninghamia lanceolate* plantation

表 2 结构方程模型的主要拟合指标

Table 2 Fit indexes of the SEM

拟合指标 Fitting index	χ^2	P	df	χ^2/df	GFI	NFI	IFI	RMSEA	AIC	BIC	ECVI
结果 Result	11.33	0.66	15	0.76	0.96	0.94	1.00	<0.05	94.39	153.24	5.02

GFI:拟合度指数 Goodness of the fit index;NFI:规范拟合指数 Normal fit index;IFI:增值适配指数 Incremental fit index;RMSEA:渐近残差平方和的平方根 Root mean square error of approximation;AIC:赤池信息准则 Akachi information criterion;BIC:贝叶斯信息准则 Bayesian information criterion;ECVI:期望复核指数 Expected cross-validation index

3 讨论

3.1 森林转换对土壤固氮菌群落的影响

土壤固 N 菌能够直接将空气中的 N 还原成氨(NH₃)供给植物吸收利用,是土壤中重要的功能微生物,也是评价森林土壤质量和生态功能的重要指标^[20]。本研究发现森林转换造成了固 N 菌 *nifH* 基因丰度和群落多样性减少,这与我国亚热带天然阔叶林转换为杉木人工林的研究结果一致^[12]。减少的原因可能是:1)土壤有机质的减少导致人工林固 N 菌多样性的降低。因为固 N 菌为异养型微生物,且固 N 过程需消耗大量能源,主要依靠 C 源来满足繁殖和代谢活动^[21]。森林转换引起的表层凋落物和土壤 SOC 含量的减少,直接减

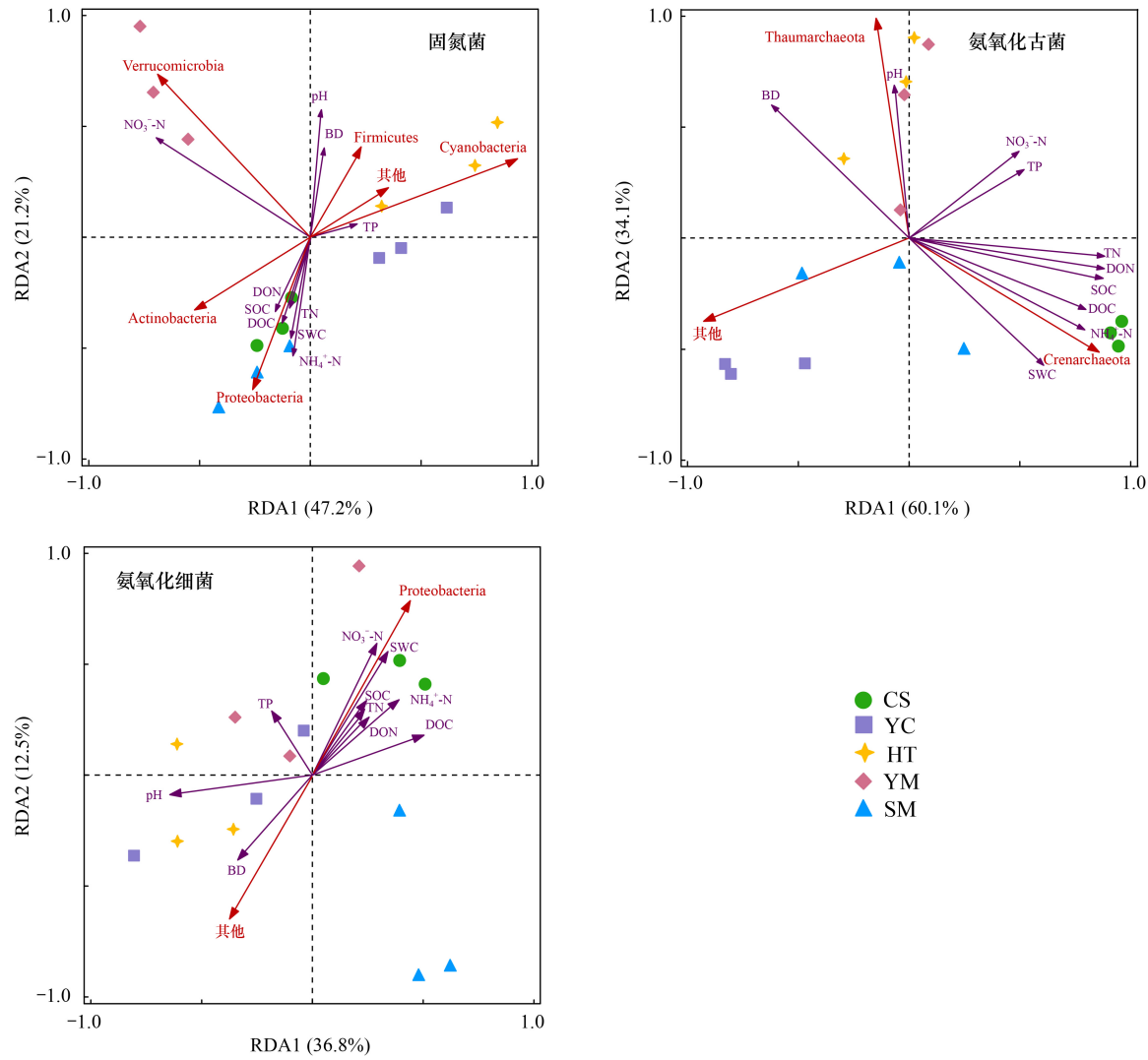


图5 五种林分土壤氮转化微生物群落与土壤性质的冗余分析

Fig.5 Redundancy analyses between soil N-transformation microbial communities and properties in five forest types

箭头的长度和角度表示解释变量和响应变量之间关系的相关性(红色代表优势菌群、紫色代表土壤性质);CS:次生林 Secondary forest; YC:油茶林 *Camellia oleifera* plantation; HT:黄桃林 *Amygdalus persica* plantation; YM:杨梅林 *Myrica rubra* plantation; SM:杉木林 *Cunninghamia lanceolata* plantation; BD:容重 Bulk density; SWC:含水率 Soil water content; pH:氢离子浓度指数 Hydrogen ion concentration; SOC:有机碳 Soil organic carbon; DOC:可溶性有机碳 Dissolved organic carbon; TN:全氮 Total nitrogen; DON:可溶性有机氮 Dissolved organic nitrogen; $\text{NH}_4^+\text{-N}$:铵态氮 Ammonium nitrogen; $\text{NO}_3^-\text{-N}$:硝态氮 Nitrate nitrogen; TP:全磷 Total phosphorus

少了固 N 菌的 C 源和底物,导致其多样性降低。2) 土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 也会影响固 N 菌的多样性。因为低浓度的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 会抑制固 N 酶基因的表达和酶活性,从而降低固 N 菌的微生物活性^[22]。因此,其多样性在 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量较低的人工林中降低。

森林转换后,土壤固 N 菌群落组成发生了显著变化,优势菌群—变形菌的相对丰度减少,而蓝细菌和疣微菌等丰度增加。由于变形菌是异养固 N 微生物,以有机化合物为 C 源,因此丰度随转换后土壤 SOC 的减少而降低^[23]。随之,隶属于变形菌 δ 亚纲的厌氧粘细菌属丰度也随之降低。蓝细菌的增加可能与土壤 SWC 和施肥有关。由于蓝细菌具有耐干燥和水合作用的能力,水分的减少会刺激其生长,因此丰度随转换后土壤 SWC 的减少而上升^[24]。另外,磷酸盐是蓝细菌固 N 的限制因素,复合矿物肥的施用可能会通过增加磷(P)的有效性刺激其固 N 活性,促进其生长繁殖^[25]。疣微菌属于寡营养类群,更偏好养分较低的土壤条件,因此其

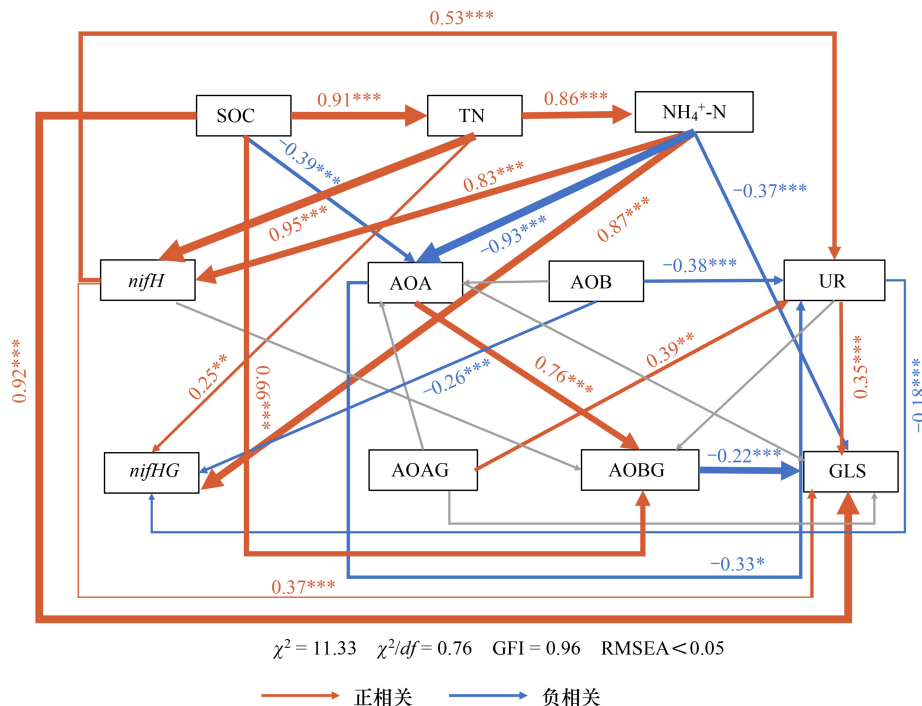


图 6 五种林分土壤氮转化关键微生物群落的 SEM 模型

Fig.6 The SEM of key microbial communities for soil N-transformation in five forest types

红色箭头代表正相关,蓝色箭头代表负相关,灰色箭头代表不显著路径;箭头上的数字表示标准化路径系数;箭头的宽度表示标准化路径系数的强度;*代表 $P < 0.05$, **代表 $P < 0.01$, ***代表 $P < 0.001$;nifH:固氮菌群落多样性 Diversity of nitrogen fixing bacteria;AOA:氨氧化古菌群落多样性 Diversity of ammonia-oxidizing archaea;AOB:氨氧化细菌群落多样性 Diversity of ammonia-oxidizing bacteria;nifHG:固氮菌的 nifH 基因丰度 nifH gene abundance of nitrogen fixing bacteria;AOAG:氨氧化古菌的 amoA 基因丰度 amoA gene abundance of AOA;AOBG:氨氧化细菌的 amoA 基因丰度 amoA gene abundance of AOB;SOC:有机碳 Soil organic carbon;TN:全氮 Total nitrogen;NH₄⁺-N:铵态氮 Ammonium nitrogen;UR:脲酶 Urease;GLS:谷氨酰胺酶 Glutaminase;GFI:拟合度指数 Goodness of the fit index;RMSEA:渐近残差平方和的平方根 Root mean square error of approximation

丰度随转换后土壤 C、N 含量的减少而增加^[26]。

3.2 森林转换对土壤氨氧化微生物群落的影响

氨氧化过程是硝化作用的关键限速步骤,即在氨氧化微生物作用下将 NH₃ 转化为亚硝酸盐(NO₂⁻-N),最终转化为 NO₃⁻-N^[27]。本研究, AOB 在五种林分的氨氧化微生物中占主导地位,森林转换显著影响了 AOA 和 AOB 的群落多样性和结构。转换后,土壤 amoA 基因丰度和 AOA 群落 α 多样性增加,而 AOB 的 α 多样性减少。优势门泉古菌、变形菌的丰度急剧减少,而奇古菌丰度增加。这与 Hayden 和 Lehtovirta 等^[28-29]的研究结果一致,主要原因可能有:1)次生林中偏低的土壤 pH 造成氨氧化微生物活性下降,降低了其基因丰度和氨氧化功能^[30]。并且, AOA 和 AOB 群落在不同 pH 水平下具有生态位特异性^[31]。Chu 等^[32]研究发现 AOB 对土壤 pH 的变化响应较 AOA 敏感,丰度随 pH 的升高而增加。而 Lehtovirta 等^[29]发现 AOA 的优势菌群—泉古菌偏好酸性较强的土壤,丰度会随 pH 的增加而减少。2)对 NH₃ 亲和力的差异导致 AOA 与 AOB 群落变化不同。AOA 偏好低氨氮的土壤生境,而 AOB 主要在高氨氮的生境中发挥作用^[33]。因此, AOA 群落的多样性随转换后土壤 NH₄⁺-N 的减少而增加,而 AOB 多样性随之减少。另外,作为硝化作用的底物,次生林中充足的 NH₄⁺-N 供应会激发 AOB 的活性,从而促进硝化作用^[3]。3)土壤 C、N 含量也会影响氨氧化微生物群落。在酸性土壤中, AOA 比 AOB 拥有更强的基质亲和力和底物竞争性,更能在寡营养条件下生存和繁殖^[34-35]。因此,转换后土壤 C、N 的减少导致了寡营养型 AOA 群落的多样性增加。

3.3 森林转换下土壤氮转化功能微生物群落变化的驱动因素

森林转换后,土壤 C、N 含量(如: SOC、TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 等)和 pH 的变化是驱动固 N 菌和氨氧化微生物群落变化的主要因素。首先,土壤 SOC 和 TN 主要通过影响微生物的基质质量和能量,改变不同营养型的固 N 菌和氨氧化微生物群落多样性和组成。本研究中,异养型微生物—变形菌是固 N 菌和 AOB 的优势菌群,其活性和丰度与土壤 C、N 含量呈正比^[23]。同时,基质亲和力的差异也导致氨氧化微生物在不同土壤 C、N 水平下产生生境分异^[34]。例如, AOB 比 AOA 更能适应高 N 环境^[36]。另外,土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 通过影响固 N 基因的表达和酶活性、AOA 与 AOB 的生长速率和活性等改变微生物群落多样性和组成^[37–38]。例如,固 N 酶基因的表达和酶活性与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度成正比,低浓度的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 会通过抑制固 N 酶基因表达降低固 N 菌活性^[22]。低 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的土壤环境有利于 AOA 的生长,而高 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 环境更有利于 AOB 的生长^[33]。最后,土壤 pH 也是驱动氨氧化微生物群落变化的关键因素。因为 AOA 对低 pH 条件的耐受性更强,使其在酸性土壤中优胜于 AOB^[31]。另外,土壤 pH 还会通过影响微生物基质的化学形式、浓度以及可利用性,导致微生物的生长和活性发生变化^[32]。

4 结论

亚热带天然次生林转换成单一人工林显著改变了土壤 C、N 养分含量,降低了土壤固 N 菌的 *nifH* 基因丰度、多样性和 AOB 的群落多样性,但提高了土壤 AOA 和 AOB 的 *amoA* 基因丰度和 AOA 群落 α 多样性。同时,森林转换通过改变各功能微生物的优势菌群(如变形菌、蓝细菌、泉古菌和奇古菌等)的相对丰度,显著影响固 N 菌和氨氧化微生物的群落组成。土壤 SOC、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量和 pH 是驱动固 N 菌和氨氧化微生物群落变化的主要因素。森林转换后,合理的施肥方式有利于人工林土壤固 N 菌和氨氧化微生物的群落恢复。本研究揭示了亚热带森林转换下土壤 N 转化关键微生物群落变化特征及驱动因素,为全球森林转换背景下人工林土壤养分修复和可持续经营提供了科学依据。今后应更注重 N 转化过程与功能微生物群落的相关研究,深入探究亚热带森林转换下土壤 N 循环的微生物学机制。

参考文献(References):

- [1] Zhang W W, Lu Z T, Yang K, Zhu J J. Impacts of conversion from secondary forests to larch plantations on the structure and function of microbial communities. *Applied Soil Ecology*, 2017, 111: 73–83.
- [2] 纪娇娇, 郑蔚, 杨智杰, 王全成, 熊德成, 胥超, 杨玉盛. 亚热带森林转换对土壤微生物呼吸及其熵值的影响. *生态学报*, 2020, 40(3): 800–807.
- [3] Nanang Zulkarnaen, 程谊, 张金波. 土地利用方式对红壤氮素矿化和硝化作用的影响. *土壤通报*, 2019, 50(5): 1210–1217.
- [4] Liu T, Wu X H, Li H W, Ning C, Li Y, Zhang X Y, He J S, Filimonenko E, Chen S, Chen X Y, Gibson D J, Kuzyakov Y, Yan W D. Soil quality and r-K fungal communities in plantations after conversion from subtropical forest. *CATENA*, 2022, 219: 106584.
- [5] Peng S M, Liu W, Xu G, Pei X J, Millerick K, Duan B L. A meta-analysis of soil microbial and physicochemical properties following native forest conversion. *CATENA*, 2021, 204: 105447.
- [6] 宋庆妮, 杨清培, 余定坤, 方楷, 赵广东, 俞社保. 赣中亚热带森林转换对土壤氮素矿化及有效性的影响. *生态学报*, 2013, 33(22): 7309–7318.
- [7] Kuypers M M M, Marchant H K, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(5): 263–276.
- [8] 李建宏, 李雪萍, 卢虎, 姚拓, 王理德, 郭春秀, 师尚礼. 高寒地区不同退化草地植被特性和土壤固氮菌群特性及其相关性. *生态学报*, 2017, 37(11): 3647–3654.
- [9] 陈洁, 骆土寿, 周璋, 许涵, 陈德祥, 李意德. 氮沉降对热带亚热带森林土壤氮循环微生物过程的影响研究进展. *生态学报*, 2020, 40(23): 8528–8538.
- [10] Merloti L F, Mendes L W, Pedrinho A, de Souza L F, Ferrari B M, Tsai S M. Forest-to-agriculture conversion in Amazon drives soil microbial communities and N-cycle. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 137: 107567.
- [11] Liu T, Wu X H, Li H W, Alharbi H, Wang J, Dang P, Chen X Y, Kuzyakov Y, Yan W D. Soil organic matter, nitrogen and pH driven change in bacterial community following forest conversion. *Forest Ecology and Management*, 2020, 477: 118473.

- [12] Guo J H, Feng H L, McNie P, Wang W F, Peng C H, Feng L, Sun J J, Pan C, Yu Y C. The effect of the conversion from natural broadleaved forests into Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.) plantations on soil microbial communities and nitrogen functional genes. *Forests*, 2022, 13(2): 158.
- [13] 蔡玉佳, 沈菊培, 张成军, 冯虞彦, DI Hongjie, 贺纪正. 不同土地利用方式土壤氨氧化微生物和反硝化微生物时空分布特征. *生态学报*, 2022, 42(14): 5847-5858.
- [14] 李黄维, 吴小红, 刘婷, 何金松, 王钧, 闫文德. 不同林分土壤磷形态与磷酸酶特征. *生态学报*, 2023, 43(3): 1257-1266.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [16] 刘婷. 不同林地利用类型土壤微生物及氮转化关键功能菌群研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2022.
- [17] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman F D, Costello E K, Fierer N, Peña A G, Goodrich J K, Gordon J I, Huttley G A, Kelley S T, Knights D, Koenig J E, Ley R E, Lozupone C A, McDonald D, Muegge B D, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky J R, Turnbaugh P J, Walters W A, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335-336.
- [18] Magoč T, Salzberg S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [19] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [20] 刘璐, 何寻阳, 杜虎, 王克林. 喀斯特土壤固氮微生物群落与植被、土壤的关系. *生态学报*, 2017, 37(12): 4037-4044.
- [21] Orr C H, Leifert C, Cummings S P, Cooper J M. Impacts of organic and conventional crop management on diversity and activity of free-living nitrogen fixing bacteria and total bacteria are subsidiary to temporal effects. *PLoS One*, 2012, 7(12): e52891.
- [22] Yeager C M, Kornosky J L, Housman D C, Grote E E, Belnap J, Kuske C R. Diazotrophic community structure and function in two successional stages of biological soil crusts from the Colorado Plateau and Chihuahuan Desert. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(2): 973-983.
- [23] Fierer N, Bradford M A, Jackson R B. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 2007, 88(6): 1354-1364.
- [24] Chamizo S, Mugnai G, Rossi F, Certini G, De Philippis R. Cyanobacteria inoculation improves soil stability and fertility on different textured soils: Gaining insights for applicability in soil restoration. *Frontiers in Environmental Science*, 2018, 6: 49.
- [25] Mukherjee C, Chowdhury R, Ray K. Phosphorus recycling from an unexplored source by polyphosphate accumulating microalgae and cyanobacteria—a step to phosphorus security in agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1421.
- [26] Fierer N, Lauber C L, Ramirez K S, Zaneveld J, Bradford M A, Knight R. Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. *The ISME Journal*, 2012, 6(5): 1007-1017.
- [27] Nunes-Alves C. Do it yourself nitrification. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(2): 61.
- [28] Hayden H L, Drake J, Imhof M, Oxley A P A, Norng S, Mele P M. The abundance of nitrogen cycle genes *amoA* and *niH* depends on land-uses and soil types in South-Eastern Australia. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(10): 1774-1783.
- [29] Lehtovirta L E, Prosser J I, Nicol G W. Soil pH regulates the abundance and diversity of Group 1.1c Crenarchaeota. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 70(3): 367-376.
- [30] 周晶. 长期施氮对东北黑土微生物及主要氮循环菌群的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2017.
- [31] Nicol G W, Leininger S, Schleper C, Prosser J I. The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing Archaea and bacteria. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11): 2966-2978.
- [32] Chu H Y, Fujii T, Morimoto S, Lin X G, Yagi K. Population size and specific nitrification potential of soil ammonia-oxidizing bacteria under long-term fertilizer management. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(7): 1960-1963.
- [33] Verhamme D T, Prosser J I, Nicol G W. Ammonia concentration determines differential growth of ammonia-oxidising Archaea and bacteria in soil microcosms. *The ISME Journal*, 2011, 5(6): 1067-1071.
- [34] Martens-Habben W, Berube P M, Urakawa H, de la Torre J R, Stahl D A. Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying Archaea and Bacteria. *Nature*, 2009, 461(7266): 976-979.
- [35] Lin Y X, Hu H W, Ye G P, Fan J B, Ding W X, He Z Y, Zheng Y, He J Z. Ammonia-oxidizing bacteria play an important role in nitrification of acidic soils: a meta-analysis. *Geoderma*, 2021, 404: 115395.
- [36] Li C Y, Di H J, Cameron K C, Podolyan A, Zhu B C. Effect of different land use and land use change on ammonia oxidiser abundance and N₂O emissions. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 96: 169-175.
- [37] Di H J, Cameron K C, Shen J P, Winefield C S, O'Callaghan M, Bowatte S, He J Z. Nitrification driven by bacteria and not Archaea in nitrogen-rich grassland soils. *Nature Geoscience*, 2009, 2(9): 621-624.
- [38] Chen J E, Shen W J, Xu H, Li Y D, Luo T S. The composition of nitrogen-fixing microorganisms correlates with soil nitrogen content during reforestation: a comparison between legume and non-legume plantations. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 508.