

改变凋落物和根系输入对米槠天然林土壤微生物群落的影响

张磊^{1,2}, 贾淑娴^{1,2}, 李啸灵^{1,2}, 陆宇明^{1,2}, 林伟盛^{1,2}, 刘小飞^{1,2}, 郭剑芬^{1,2}

(1.福建师范大学地理科学学院,福州 350007;2.湿润亚热带生态—地理过程教育部重点实验室,福州 350007)

摘要: 伴随气候变化下亚热带地区米槠天然林净初级生产力变化,凋落物以及植物根系输入亦会发生改变,这将显著影响土壤微生物群落。于2019年7月在设置7年的米槠天然林植物残体添加和去除试验(the detritus input and removal treatments, DIRT)样地采集不同处理(对照、去除地上凋落物、去除地下根系、无凋落物输入、添加双倍地上凋落物)的2个土层土壤(0—10, 10—20 cm),测定微生物磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFA)含量,计算各微生物群落比值以及多样性,进一步揭示凋落物和植物根系输入对亚热带米槠天然林土壤微生物群落组成和多样性的影响。结果表明:(1)不同处理下0—10 cm土层微生物磷脂脂肪酸含量约为10—20 cm土层的2倍;(2)地上凋落物变化均使得革兰氏阳性菌、阴性菌及放线菌等细菌含量出现不同程度的下降,但不会对丛枝菌根等真菌含量产生影响,而去除根系处理显著降低丛枝菌根真菌含量;(3)微生物群落 Shannon-wiener、Simpson 多样性指数不受凋落物输入的影响,凋落物去除降低表层土壤微生物群落的 Margalef 丰富度,提高 Pielou 均匀度,表明0—10 cm土层微生物群落含量与分布状况受凋落物输入变化影响较大;(4)地下植物根系存在可提高真菌(如丛枝菌根真菌)含量,而地上凋落物输入主要改变细菌丰度以及群落结构。可溶性有机碳以及矿质氮是影响不同处理土壤微生物群落组成和多样性的主要因素。可见,凋落物和根系输入通过土壤理化性质的变化而影响了微生物群落,研究结果可为全面认识植物、土壤与微生物间的相互作用对森林生产力的影响提供科学依据。

关键词: 微生物群落; 微生物多样性; 磷脂脂肪酸; 凋落物; 根系

中图分类号:S154.3

文献标识码:A

文章编号:1009-2242(2021)06-0270-08

DOI:10.13870/j.cnki.stbcbx.2021.06.037

Effects of Litter and Root Inputs Changing on Soil Microbial Community in a Natural *Castanopsis carlesii* Forest

ZHANG Lei^{1,2}, JIA Shuxian^{1,2}, LI Xiaoling^{1,2}, LU Yuming^{1,2},

LIN Weisheng^{1,2}, LIU Xiaofei^{1,2}, GUO Jianfen^{1,2}

(1.College of Geographical Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350007;

2.Key Laboratory of Humid Subtropical Eco-Geographical Processes, Ministry of Education, Fuzhou 350007)

Abstract: With the change of net primary productivity in a natural forest of *Castanopsis carlesii* in subtropical region under climate change, litter and plant root inputs will also change, which will significantly affect soil microbial community. In this study, the Detritus Input and Removal Treatments (DIRT) had been set up in a natural *C. carlesii* forest for seven years. In July 2019, soils of two layers (0—10, 10—20 cm) indifferent treatments (control, removal of above-ground litters, removal of roots, no input of litters, and addition of double above-ground litters) were collected to measure microbial phospholipid fatty acid (PLFA) contents. The ratio and diversity of microbial groups were calculated to further reveal the influencing mechanism of litter and plant root inputs on soil microbial community composition and diversity in a subtropical natural *C. carlesii* forest. The results showed that: (1) The PLFA content of microorganisms in the 0—10 cm soil layer for different treatments was about twice that in the 10—20 cm soil layer. (2) The addition or removal of litters reduced the contents of gram-positive bacteria, gram-negative bacteria, actinomycetes and other bacteria to varying degrees, but had no effect on arbuscular mycorrhizal fungi. The root removal reduced the PLFA

收稿日期:2021-06-04

资助项目:福建省科技厅公益类重点项目(2019R1002-4);福建省高等学校新世纪优秀人才支持计划项目(J1-1253);国家自然科学基金青年基金项目(31800517)

第一作者:张磊(1996—),男,硕士研究生,主要从事森林碳氮循环研究。E-mail:zhangleic789@163.com

通信作者:刘小飞(1985—),男,高级实验师,主要从事亚热带森林生态系统土壤碳动态和森林地下碳分配对全球变化循环研究。E-mail: xfliu@fjnu.edu.cn

content of arbuscular mycorrhizal fungi significantly. (3) Shannon-Wiener and Simpson diversity indices of the microbial communities were not affected by different treatments. Litter removal reduced the richness of soil microbial community and improved the evenness. The content and distribution of microbial community in 0—10 cm soil layer were greatly affected by the change of litter input. (4) Plant roots improved the content of fungi, while litter input mainly changed bacterial abundance and structure. Soluble organic carbon and mineral nitrogen were the main factors that affect the microbial community composition and diversity. Therefore, litter and root inputs affected soil microbial community through the change of soil properties. The results can provide a scientific basis for understanding the effects of interactions among plants, soil, and microorganisms on forest productivity.

Keywords: microbial community; microbial diversity; phospholipid fatty acid; litter; root

伴随着全球气候变暖、氮沉降等气候变化的加剧,森林生态植被群落、物种构成以及植物本身的化学计量发生明显变化,导致凋落物以及根系输入的数量及质量亦相应发生改变^[1]。在森林生态系统中,90%的净初级生产量是以地上或地下凋落物的形式归还到土壤中,凋落物不仅直接向土壤输入碳氮等营养元素,而且其数量、质量变化也改变土壤微环境,如温度、含水量以及pH等,进而间接改变土壤碳氮循环过程^[2]。

土壤微生物作为分解者在森林生态系统中积极参与物质循环和能量流动,是凋落物分解、土壤呼吸以及生物化学循环等过程的主要驱动因子之一^[3]。土壤微生物通过对土壤有机质的矿化及积累,实现土壤有机质固定和植物对养分的吸收。在森林生态系统中,凋落物与根系及其分泌物是土壤微生物的主要碳源,凋落物和根系输入的细微变化导致微生物群落的快速响应^[4]。卢胜旭等^[5]对亚热带米楮人工林的研究中发现,凋落物输入变化导致微生物磷脂脂肪酸含量发生显著变化,且细菌、放线菌等受地上凋落物输入变化影响明显;Zhao等^[6]在温带樟子松人工林的研究中发现,地上凋落物输入减少并不会对土壤微生物量、群落结构以及功能状况产生影响,这可能是因为常绿阔叶林凋落物营养元素、碳氮含量相对较高,以及地下植物根系对土壤微生物影响差异等因素;Wang等^[7]在中亚热带杉木和马尾松混交林的研究中发现,根系去除引起的土壤微生物群落变化大于凋落物添加处理,其中放线菌主要受植物根系输入的影响;Brant等^[8]在温带落叶栎林凋落物和根系输入试验中发现,根输入是导致土壤微生物群落发生变化的主要因素,去除根系增加了放线菌数量,减少了真菌的数量,两者均说明除地上凋落物外,地下植物根系输入变化也是影响土壤微生物含量以及结构的重要因素之一。综上所述,微生物对凋落物和根系输入变化的响应受地带差异、森林类型等因素影响具有一定的复杂性,且目前在亚热带常绿阔叶天然林中研究凋落物和植物根系输入变化对微生物影响相对较少。

我国亚热带地区作为同纬度地区唯一的“绿洲”,因其森林面积大、净初级生产力高以及生物多样性丰富受到广泛关注。米楮(*Castanopsis carlesii*)是该地区主要的建群种与优势种,形成了稳定的顶级生态群落^[9]。因此,本研究在亚热带米楮天然林内设置凋落物和根系添加与去除试验,根据不同土层(0—10, 10—20 cm)土壤微生物各特征磷脂脂肪酸含量及土壤理化性质差异,对土壤微生物群落组成以及多样性进行研究,这对全面认识亚热带植物、土壤与微生物间的相互作用,以及土壤肥力固持、森林生产力提高等有重要意义。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于福建省三明市格氏栲自然保护区(117°28'E, 26°11'N),海拔305~315 m,年平均降水量1 630 mm,平均气温19.5℃。本保护区试验样地土壤是由砂岩发育而成的红壤。本研究区米楮天然林林龄约200年,人为干扰较少。该试验样地天然林的密度为1 192 hm²,2012年的群落调查表明,建群种为米楮(*Castanopsis carlesii*),林下植被主要为华山姜(*Alpinia chinensis*)、硃砂根(*Ardisia crenata*)、香花崖豆藤(*Millettia dielsiana*)、桂北木姜子(*Litsea subcoriacea*)和狗脊(*Woodwardia japonica*)等,总生物量为397.4 t/hm²,平均树高为19.2 m,平均胸径为22.13 cm^[10]。

1.2 DIRT样地设置

本研究地于2012年6月在米楮天然林中随机布设3块20 m×20 m标准样地,每块标准样地内随机布设5个1 m×1 m的试验小区,5种处理,3个重复,共设置15个试验小区。具体试验设计为:对照处理(CT)是自然状态下正常凋落物输入状态;去除地下根系(NR)是在试验小区周围挖1 m的壕沟并埋入0.1 mm孔径尼龙网隔绝根系;去除地上凋落物(NL)是将1.5 m×1.5 m、孔径为2 mm的尼龙网放置于试验小区上方,隔绝叶、枝等地上凋落物输入;无

凋落物输入处理(NI)是将去除地上与地下凋落物处理都应用于该试验小区;添加双倍凋落物处理(DL)是每月末将去除地上凋落物处理尼龙网上的凋落物均匀铺置于该试验小区。

1.3 土壤样品采集

2019 年 7 月(湿季),在 DIRT 处理各小区内采用“S”点取样法设置 5 个采样点。用直径为 3 cm 的土钻钻取 0—10,10—20 cm 土层土样,装入已灭菌的自封袋内后带回实验室。充分混合均匀土壤后去除肉眼可见的石块以及植物根系残体后,将土样过 2 mm 筛后分为 3 部分,部分保存于-20 ℃冷冻箱,用于测定土壤磷酸脂肪酸(phospholipid fatty acid,PL-FA);部分新鲜土壤过 2 mm 筛,测定可溶性有机碳、氮、硝态氮以及铵态氮;部分土壤室内自然风干后过

0.149 mm 筛,测定土壤碳氮含量等指标。

1.4 土壤基本理化性质测定

土壤含水率采用烘干法测定;土壤 pH 采用便携式 pH 计(STARTER 300,OHAUS,美国)测定;全氮(total nitrogen,TN)与全碳(total carbon,TC)采用土壤碳氮元素分析仪(Elemental Analyzer Vario ELIII,德国)测定;土壤可溶性有机氮(dissolved organic nitrogen,DON)以及土壤可溶性有机碳(dissolved organic carbon,DOC)冷水浸提后分别采用连续流动分析仪(Skalar San++,荷兰)测定 DON 含量,DON 含量是通过 $TN \rightarrow NH_4^+ - N \rightarrow NO_3^- - N$ 计算后获得,TOC 分析仪(TOC-VPH/CPN,Shimadzu,日本)测定 DOC 浓度;土壤铵态氮和硝态氮($NH_4^+ - N$ 和 $NO_3^- - N$)采用硫酸钾浸提后用连续流动分析仪(Skalar San++,荷兰)测定。具体结果见表 1。

表 1 不同凋落物和根系输入处理土壤化学性质

土层深度/cm	处理	pH	$NH_4^+ - N$ / ($mg \cdot kg^{-1}$)	$NO_3^- - N$ / ($mg \cdot kg^{-1}$)	DOC/ ($mg \cdot kg^{-1}$)	DON/ ($mg \cdot kg^{-1}$)	TN/ ($g \cdot kg^{-1}$)	TC/ ($g \cdot kg^{-1}$)	C/N
0—10	CT	4.11±0.14Aa	19.65±0.57Aa	7.26±0.22Aa	90.55±3.88Aa	4.69±0.31Aa	1.54±0.04Aa	21.48±0.99Ba	13.99±0.99Ba
	NR	4.15±0.09Aa	11.92±0.67Ca	4.08±0.65Ba	47.91±1.39Ca	1.65±0.04Ca	1.13±0.1Ca	19.36±0.84Ca	17.25±0.97Aa
	NL	4.18±0.05Aa	10.14±0.55Da	4.80±0.10Ba	36.54±1.52Da	1.98±0.08Ca	1.12±0.08Ca	18.41±0.56Ca	16.52±0.69Aa
	NI	4.08±0.07Ab	9.29±0.92Da	1.99±0.51Ca	39.24±3.15Da	1.95±0.18Ca	1.14±0.05Ca	19.37±0.21Ca	17.05±0.82Aa
	DL	4.12±0.01Aa	13.11±0.01Ba	4.18±0.01Ba	71.65±0.01Ba	2.90±0.01Ba	1.4±0.01Ba	23.11±0.01Aa	16.54±0.01Aa
	CT	4.11±0.01Ba	12.88±0.01Ab	2.80±0.01Ab	44.22±0.01Ab	1.90±0.01Bb	0.8±0.01Bb	12.48±0.01Bb	15.52±0.01Aa
10—20	NR	4.17±0.04ABa	8.37±1.00Cb	2.82±0.55Ab	36.05±1.63Bb	1.81±0.59Ba	0.85±0.07Bb	11.49±0.49Cb	13.50±0.79Bb
	NL	4.25±0.03Aa	9.48±0.47BCa	1.54±0.64Bb	30.77±0.07Cb	0.60±0.41Cb	0.87±0.04Bb	13.41±0.27Bb	15.48±0.47Aa
	NI	4.22±0.04Aa	10.01±0.34Ba	0.70±0.02Cb	20.66±0.32Db	1.67±0.29Ba	0.89±0.07Bb	12.6±0.36Bb	14.19±0.65Bb
	DL	4.25±0.01Aa	12.45±0.01Aa	2.30±0.01Ab	41.86±0.01Ab	2.80±0.01Aa	1.02±0.01Ab	14.66±0.01Ab	14.43±0.01ABb
T	ns		***	***	***	***	***	***	ns
S	*		***	***	***	***	***	***	***
T×S	ns		***	***	***	***	***	***	***

注:T 为处理;S 为土层;TN 为总氮;DON 为可溶性有机氮;n=3;表中数据为平均值±标准差;不同大写字母表示不同处理间差异显著(P<0.05);不同小写字母表示不同土层间差异显著(P<0.05)。下同。

1.5 磷脂脂肪酸测定

磷脂脂肪酸测定是通过总脂提取、磷脂分离以及磷脂甲酯化提取出干燥的磷脂脂肪酸甲脂,后将 200 μL 含有 19:0 甲酯的内标液将样品洗入 GC 瓶,用

气象色谱仪(Agilent 6890N,美国)进行特征磷脂脂肪酸的鉴定。计算采用 19:0 内标法,每单位干土所含脂肪酸含量 nmol/g。主要的磷酸脂肪酸标记与对应微生物群落^[11]见表 2。

表 2 磷脂脂肪酸特征值标记物

微生物群落类型	磷脂脂肪酸标记物
革兰氏阳性细菌(GP, gram-positive bacteria)	i14:0,i15:0,a15:0,i16:0,i17:0,a17:0
革兰氏阴性细菌(GN, gram-negative bacteria)	16:1ω9c,16:1ω7c,cy17:0,18:1ω7c,18:1ω5c,cy19:0
丛枝菌根真菌(AMF, arbuscular mycorrhizal fungi)	16:1ω5c
放线菌(ACT, actinomycetes)	10Me16:0,10Me17:0,10Me18:0
真菌(fungi)	18:1ω9c,18:2ω6c
细菌(bacteria)	i14:0,i15:0,a15:0,i16:0,i17:0,a17:0,16:1ω9c,16:1ω7c,cy17:0,18:1ω7c,18:1ω5c,cy19:0
GP/GN	革兰氏阳性菌革兰氏阴性菌磷脂脂肪酸含量比值
F/B	真菌和细菌磷脂脂肪酸含量比值

1.6 数据处理

数据经过 Excel 2010 软件处理,用 SPSS 24.0 软件进行统计分析。采用单因素方差分析(one-way

ANOVA)检验不同处理指标之间的差异显著性(P=0.05)。采用双因素方差(two-way ANOVA)分析判断土层与处理间交互效应。采用独立样本 T 检验对

土层间各指标进行显著性检验($P=0.05$)。采用 Canoco 5.0 软件,将不同土层土壤微生物群落构成作为响应因子,土壤基本理化性质作为环境因子做冗余分析并绘制图像。其余绘图由 Origin 2018 软件完成。

微生物种群多样性采用 Shannon—wiener 多样性指数(H')、Pielou 均匀度指数(J)、Simpson 优势度(D)与 Margalef 丰富度指数(R)^[12-13],计算公式为:

$$H' = -\sum_{i=1}^n P_i \ln P_i \quad (i=1,2,\cdots,n)$$
$$J = H' / \ln S$$
$$M = (S-1) / \ln N$$

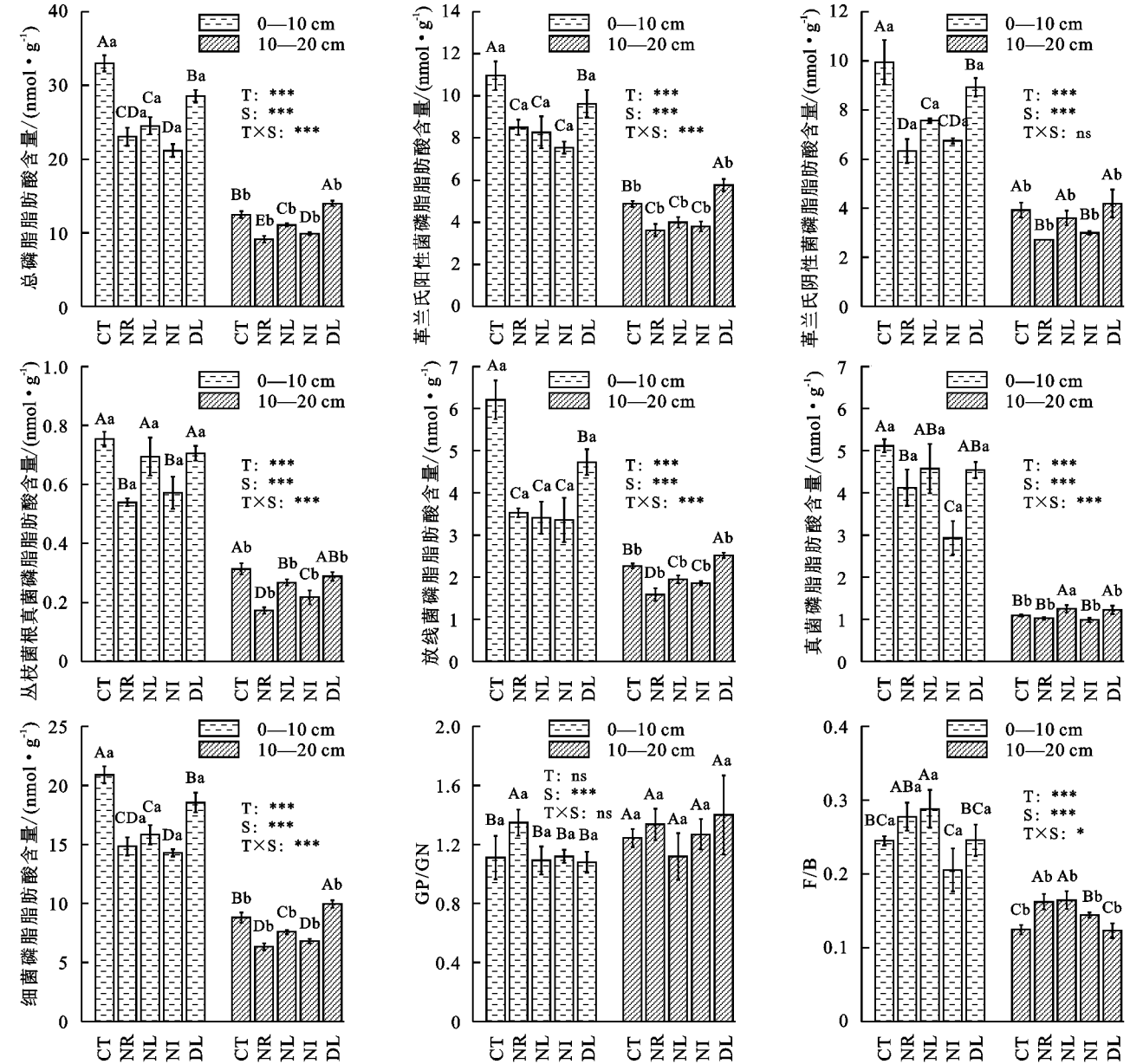
$$D = 1 - \sum P_i^2$$

式中: $P_i=N_i/N$, N_i 为第*i*种特征磷脂脂肪酸含量; N 为特征磷脂脂肪酸含量总和; S 为同一样品检测出磷脂脂肪酸种数。

2 结果与分析

2.1 凋落物和根系输入变化中土壤磷脂脂肪酸含量

由图 1 可知,不同土层之间的微生物 PLFAs 含量差异显著,0—10 cm 土层中各微生物群落 PLFAs 含量约为 10—20 cm 土层的 2 倍,说明土层深度对微生物群落结构影响显著($P<0.05$)。



注:T 为处理;S 为土层。图中不同大写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$);不同小写字母表示不同土层间差异显著($P<0.05$)。下同。

图 1 不同凋落物和根系输入处理土壤微生物磷脂脂肪酸含量

在 0—10 cm 土层中,各凋落物和根系处理土壤微生物总 PLFAs 含量以 CT 处理的最高(32.98 nmol/g),NI 处理的最低(21.15 nmol/g)(图 1)。NR、NL、NI 处理土壤革兰氏阳性菌 PLFAs 含量没

有差异,但都显著低于 CT 和 DL 处理,说明去除凋落物或者根系对革兰氏阳性菌有明显影响($P<0.05$)。NR 处理革兰氏阴性菌 PLFAs 含量显著低于其余处理,说明根系可能是影响革兰氏阴性菌的因

素之一。丛枝菌根真菌 PLFAs 含量较低(0.57~0.75 nmol/g),CT、NL、DL 处理丛枝菌根真菌 PLFAs 含量显著大于 NR 和 NI 处理。CT 处理放线菌 PLFAs 含量最高(6.21 nmol/g),而 NR、NL、NI 3 种处理 PLFAs 含量显著低于其他处理,且三者之间没有显著差异,这与革兰氏阳性菌的变化趋势相同。真菌 PLFAs 含量在 NI 处理中明显低于其他处理,说明凋落物和根系去除影响真菌含量。

在 10—20 cm 土层中,微生物总 PLFAs 含量呈现 DL>CT>NL>NI>NR 的变化趋势,且各处理间的差异显著($P<0.05$)。DL 处理革兰氏阳性菌含量显著高于其余处理,而 NR、NL、NI 处理间无显著差异。在革兰氏阴性菌 PLFAs 含量中,DL、CT 与 NL 处理间没有显著差异,但三者显著大于 NI 与 NR 处理。丛枝菌根真菌 PLFAs 含量在不同处理间具有明显差异,其中 NR 处理含量最低(0.17 nmol/g),CT 处理含量最高(0.31 nmol/g)。NR 处理放线菌含量显著低于其他处理,且 NI 与 NL 处理间无显著差异。NL 与 DL 处理之间真菌 PLFAs 含量没有明显差异;DL 处理细菌 PLFAs 含量明显高于其他处理。处理和土层对各微生物 PLFAs 含量有极显著影响($P<0.001$)。同时,除革兰氏阴性菌外,其他各类微生物 PLFAs 含量受处理和土层交互作用的影响显著。

0—10 cm 土层中,NR 处理革兰氏阳性菌与阴性菌比值(GP : GN)显著大于其余处理。在 0—10 cm 土层中,真菌与细菌比值(F : B)在不同处理间差

异显著,NI 处理比值仅为 0.20,NR 为 0.27,NL 为 0.28,说明凋落物和根系输入变化对微生物群落结构影响较大,但并没有改变细菌在微生物群落结构中的主导地位。在 10—20 cm 土层中不同处理间 GP : GN 比值没有显著差异。与 CT 处理相比,去除凋落物或者根系处理 F : B 比值有不同程度上升;同时,GP : GN 和 F : B 受处理和土层交互作用的影响较低。

2.2 凋落物和根系输入变化中土壤微生物多样性

由表 3 可知,在 0—10 cm 土层中,不同处理间 Shannon—wiener 多样性指数、Simpson 多样性指数没有显著差异,但 Margalef 丰富度指数差异显著,其中 DL 处理显著大于其余处理,CT 与 NR 处理指数次之,NL 处理指数最低。Pielou 均匀度指数在处理间差异显著,呈现 NI>NL>NR>CT>DL 的变化趋势,凋落物或根系去除处理均匀度指数显著大于双倍凋落物添加处理。在 10—20 cm 土层中,CT 处理 Shannon—wiener 多样性指数和 Simpson 多样性指数明显低于其他处理;NR 与 NI 处理中 Margalef 丰富度指数显著低于其他处理,这表明在该土层植物根系对微生物丰富度的影响较强。Pielou 均匀度指数呈现与 Margalef 丰富度指数相反的变化趋势,说明 NI 处理中检测出的 PLFAs 种数较少且含量均匀。另外,Margalef 丰富度指数分别受处理和土层的影响非常显著($P<0.001$),处理和土层的交互作用对 Simpson 和 Shannon—wiener 多样性指数以及 Margalef 丰富度、Pielou 均匀度均有显著影响($P<0.05$)。

表 3 不同凋落物和根系输入处理土壤微生物多样性指数

土层深度/cm	处理	Shannon—wiener 指数	Simpson 指数	Margalef 指数	Pielou 指数
0—10	CT	2.5015±0.0279Aa	0.9022±0.0043Aa	4.9770±0.1982Bb	0.8601±0.0027Da
	NR	2.4740±0.0643Aa	0.8961±0.0071Aa	4.8779±0.1892BCb	0.8858±0.0124Cb
	NL	2.5163±0.0184Aa	0.9036±0.0035Aa	4.6768±0.0795Db	0.9076±0.0066Bb
	NI	2.4570±0.0240Ab	0.8950±0.0022Ab	4.2615±0.0577Cb	0.9310±0.0091Ab
	DL	2.4736±0.0208Ab	0.8958±0.0043Aa	5.2728±0.1649Ab	0.8453±0.0019Eb
10—20	CT	2.4441±0.0293Ba	0.8880±0.0043Bb	5.9466±0.0870Aa	0.8815±0.0106Cb
	NR	2.5213±0.0206Aa	0.9029±0.0035Aa	5.4321±0.1238Ba	0.9830±0.0080Aa
	NL	2.5156±0.0173Aa	0.9021±0.0033Aa	5.8281±0.0432Aa	0.9289±0.0064Ba
	NI	2.5569±0.0468Aa	0.9080±0.0059Aa	5.2451±0.0484Ba	0.9968±0.0182Aa
	DL	2.5197±0.0100Aa	0.9004±0.0011Aa	5.8156±0.2069Aa	0.9023±0.0103Ca
T		ns	*	* * *	* * *
S		*	ns	* * *	* * *
T×S		* *	* * *	* * *	* *

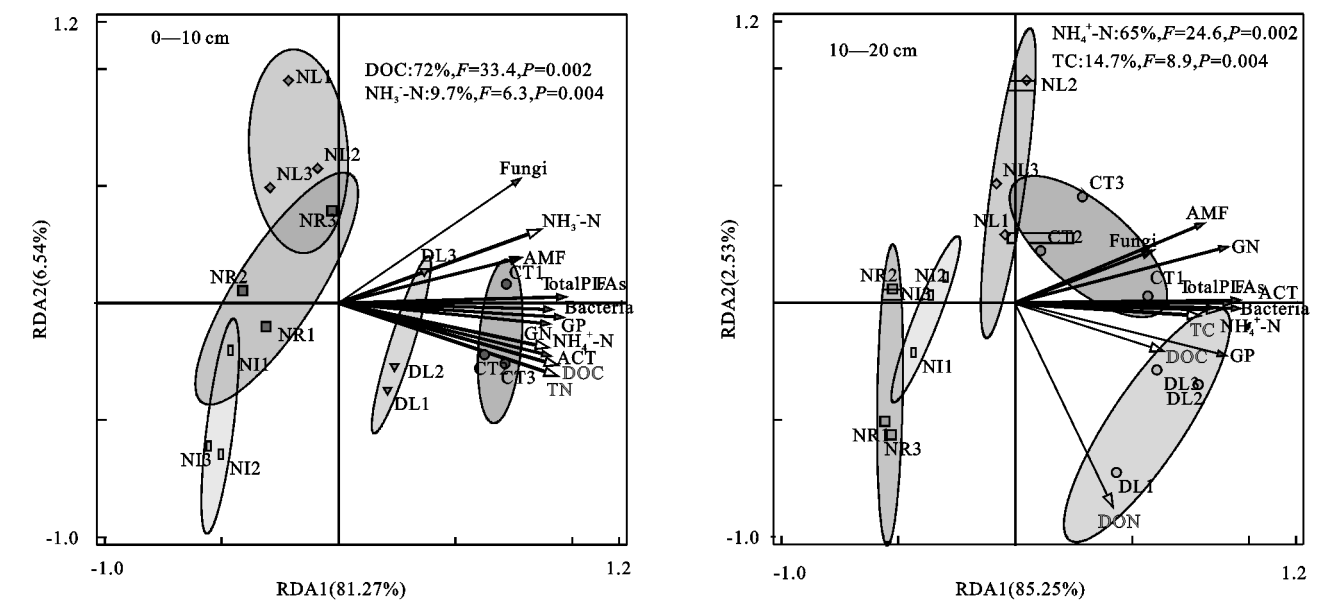
2.3 凋落物和根系输入变化处理中影响土壤微生物的主要因素

通过冗余分析(RDA)(图 2)可知,不同处理间的聚类效应较好。在 0—10 cm 土层中,轴 1 解释了微生物 PLFAs 含量变化的 81.27%,轴 2 解释了微生物 PLFAs 含量变化的 6.54%。在该土层的环境影响因

子中,DOC 解释度最高,达到 72.00%($P=0.002$),主要影响放线菌以及革兰氏阳性菌 PLFAs 含量,其次为 NO₃⁻—N,解释度为 9.7%($P=0.004$)。在 10—20 cm 土层中,轴 1 解释了微生物 PLFAs 含量变化的 85.25%,轴 2 解释了微生物 PLFAs 含量变化的 2.53%;NH₄⁺—N 是该土层中主要的环境影响

因素,解释度为 65.00% ($P=0.002$),其与细菌、放线菌以及总微生物 PLFAs 含量相关性最强,TC 解释度也达到 14.7% ($P=0.004$)。另外,在本研究中,去除凋落物或者植物根系处理均出现在与主要影

响因子相反的方向,而对照或添加凋落物处理则与主要影响因子同向,这表明 4 种环境变量主要影响不同处理土壤微生物含量及多样性,特别是 DOC 以及矿质氮。



注:GP 为革兰氏阳性菌;GN 为革兰氏阴性菌;AMF 为丛枝菌根真菌;ACT 为放线菌;Bacteria 为细菌;Fungi 为真菌;DOC 为可溶性有机碳;DON 为可溶性有机氮;TC 为总碳;TN 为总氮。

图 2 凋落物和根系输入变化下土壤磷脂脂肪酸冗余分析

3 讨论

3.1 凋落物和根系输入变化对土壤微生物群落组成的影响

磷脂脂肪酸作为微生物细胞膜的关键组成部分,不同种类的微生物可以合成不同生物标记的磷脂脂肪酸。本研究中,0—10 cm 土层微生物 PLFAs 含量约为 10—20 cm 土层的 2 倍,这主要是因为土壤表层(0—10 cm)凋落物以及植物根系丰富,土壤有机质含量高(表 1),因而该层 PLFAs 含量更高。

相对 CT 处理,去除凋落物或者根系处理表层(0—10 cm)土壤总 PLFAs、革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、细菌以及放线菌含量均有不同程度下降,如邹秉章^[14]在对杉木人工林的间伐和套种试验中发现,相对真菌而言,革兰氏阳性菌等细菌属于富营养微生物,它们主要以新鲜输入的有机质作为可利用底物。土壤表层凋落物以及根系的去除使得土壤中构成微生物结构碳和氮磷等新鲜输入的营养物质缺失,而细菌作为 r-策略生物无法获得底物,整个种群规模也会出现不同程度的下降。真菌作为 k-策略生物与细菌生存策略相反,具有需营养量、需水量、敏感性低的特征,且能构成较为完整的菌丝网络,降低对外部新鲜输入营养物质(如可溶性有机质)的依赖需求。NR 与 NI 处理真菌 PLFAs 含量显著低于 NL 处理,是因为植物根系一方面促进有机碳的固定,另一方面

植物根系也与特定真菌形成共生关系^[15],去除植物根系(NR、NI)导致丛枝菌根真菌等真菌失去相应的依附结构,数量以及活性也因此降低,这也表明真菌受根系影响较大。

一般认为,GP:GN 值高有机碳可利用度低,对揭示土壤有机碳利用状况具有关键作用。本研究中,仅有 0—10 cm 土层 NR 处理显著大于其他处理,Farinin 等^[16]在瑞典北部某小岛进行树根移除有时也发现,去除植物根系增加 GP:GN 比值,这与本研究结果一致。有研究^[17]也表明,植物根际周围及分泌物含有糖类易分解物质,可作为微生物生长的底物,去除根系使得土壤中 β -葡萄糖苷酶等分解碳的酶活性下降^[18],微生物碳源代谢功能下降,碳可利用性也降低。在 NL 处理中 F:B 值明显高于其他处理,这与吴君君^[2]在亚热带人工针叶林 DIRT 试验结果相似。在前期研究^[19]结果中发现,保留根系处理中惰性碳含量显著高于其他处理,易分解碳输入减少,惰性碳比重上升。真菌相对细菌更倾向于利用土壤中的难降解物质(木质素、纤维素),因此真菌比细菌更容易获得代谢底物。另外,细菌种群基数大而真菌种群基数小,进而影响各处理比值。

α 多样性指数常用来指示植物或微生物的种数以及数量状况。在本研究中,Shannon-Wiener、Simpson 多样性指数在不同处理以及土层之间并无

明显变化,这表明凋落物和根系输入变化并不会对微生物群落的多样性造成显著影响,这可能是由于本研究地米楮林龄在 200 年以上,植被以及微生物群落演替都达到顶级状态,凋落物输入变化并不会对微生物多样性造成显著影响。而表层土壤 Margalef 丰富度指数在不同处理之间差异显著,添加凋落物处理显著大于去除凋落物或者植物根系处理,这表明凋落物输入量以及类型变化影响微生物各种群丰富度。桑昌鹏等^[20]在对滨海沙地进行凋落物和根系去除试验也发现,凋落物以及根系输入变化会导致不同类型微生物群落萎缩。另外,0—10 cm 土层 Margalef 指数明显低于 10—20 cm 土层,这可能是由于本研究中各土层微生物种数无明显差异,而 PLFAs 含量差异显著。在 0—10 cm 土层中,Pielou 均匀度指数在不同处理间差异显著,这可能是由于 NI 处理缺少凋落物和植物根系新鲜物质输入,表层土壤易受到凋落物的直接影响,温度、含水量等微环境发生变化。同时,添加双倍凋落物处理有机质输入增多,土壤中易分解碳氮比例上升,可能衍生更多不同种类微生物。另外,与韩世忠等^[21]在福建省建瓯和武夷山米楮天然林土壤微生物研究相比,本研究多样性指数和丰富度指数均有不同程度下降,这可能与土壤有机质含量多寡等基本理化性质有关。在韩世忠等^[21]的研究中两地的有机质含量(有机碳、总氮)以及 pH 均大于本文,这可能是由于丰富的有机质可以为微生物提供活性底物,另外低 pH 的酸性土壤对微生物生长产生生理胁迫,特别是胞外酶活性降低使微生物失去分解的主要来源。Geisseler 等^[22]也发现,在中性土壤中细菌群落多样性丰富,而在酸性土壤中较低,且 pH 与 PLFA 具有显著的正相关关系。

3.2 凋落物和根系输入变化对土壤微生物的影响因素分析

RDA 分析表明,在 0—10 cm 土层中,可溶性有机碳(DOC)是影响该土层微生物种群的重要因素。DOC 主要通过枯枝落叶层的淋溶以及植物根系分泌物周转产生,是微生物营养物质以及能量的主要来源。本研究中凋落物和根系输入变化导致作为微生物底物呼吸的关键成分 DOC 发生显著变化(表 1),从而对整个微生物群落组成产生影响。同时,根据 DOC 化学结构等因素可将 DOC 分为疏水性和亲水性,虽然被吸附的 DOC 移动性差,被微生物利用能力仅为可流动 DOC 的 1/5^[23],但疏水性 DOC 所占比值大,同时疏水性 DOC 的吸附能力强,大量 DOC 被截留在土壤表层^[24],导致表层土壤 DOC 浓度显著

大于底层,因此 DOC 为表层土壤微生物群落组成变化的主要影响因素。另外,真菌与 DOC 的相关性最低(图 2),这是因为真菌主要通过利用难分解物质为主,而对不稳定碳化合物的敏感度低,如葡萄糖、氨基酸等。在 10—20 cm 土层中,TC 是次要影响因素。全球 1 m 土层内土壤有机碳(SOC)含量约为总碳的 60%以上^[25],而 SOC 经过微生物分解后被其获取成为自身能源,满足生长需求,进而影响微生物群落。

矿质氮主要是铵态氮(NH_4^+-N)和硝态氮(NO_3^--N),在 0—10 cm 土层中, NO_3^--N 为次要影响因素,而在 10—20 cm 土层中, NH_4^+-N 是影响微生物群落组成的主要因素。 NH_4^+-N 是我国南方无机氮的主要成分^[26],同时我国南方地区也是全球三大氮沉降地区之一,因此植物凋落物及根系分泌物的氮含量高,本研究也发现,凋落物和根系输入变化对矿质氮含量产生显著影响(表 1),这与卢胜旭等^[5]在亚热带米楮人工林的研究结果一致。这主要是因为氮有效性增加促进微生物活性提高,以及数量增加,促进微生物代谢功能增强;Wei 等^[27]也认为,一定量 NH_4^+-N 的添加会导致团聚体中革兰氏阳性菌数量的增加,而 NO_3^--N 的增多则促进革兰氏阴性菌含量增加。

4 结论

在植物残体的添加与去除试验中发现,地上与地下凋落物的添加与去除对微生物群落组成以及多样性产生显著影响。不同处理下细菌含量显著大于真菌含量,说明凋落物的添加与去除并不会改变该地区细菌的主导地位。添加或去除凋落物使得革兰氏阳性菌等细菌出现不同程度的下降;相比对照,去除根系、去除凋落物以及无凋落物输入处理土壤细菌含量分别下降 28.7%,21.1%和 29.0%。凋落物添加与去除并不会对丛枝菌根真菌等真菌产生显著影响,但去除根系处理相比对照则降低 33.3%的丛枝菌根真菌以及 17.1%的真菌。

微生物群落多样性没有受到凋落物添加或去除的影响,凋落物去除降低表层土壤微生物群落的丰富度而提高均匀度,且含有凋落物的处理土壤微生物丰富度与均匀度大,说明凋落物影响表层土壤微生物群落多样性。由此可见,亚热带常绿阔叶林中植物根系输入主要对真菌数量以及结构产生影响,而地上凋落物输入主要影响细菌丰度,但具体影响机制仍需进一步的研究。另外,可溶性有机碳以及矿质氮是影响微生物群落结构的主要因素。

因此,植物残体的添加与去除可能直接导致土壤

性质发生改变,如矿质氮、可溶性有机碳等间接影响微生物的组成以及群落多样性,而其又作用于土壤养分循环,从而使得土壤肥力状况等发生变化,影响森林生产力。

参考文献:

- [1] Xu S, Liu L, Sayer E J. Variability of aboveground litter inputs alters soil physicochemical and biological processes: A meta-analysis of litterfall-manipulation experiments[J]. *Biogeosciences Discuss*, 2013, 10(3): 5245-5272.
- [2] 吴君君. 人工针叶林生态系统凋落物输入调控对土壤有机碳动态和稳定性的影响[D]. 武汉: 中国科学院武汉植物园, 2017.
- [3] Gryta A, Frac M, Oszust K. The application of the Biolog EcoPlate approach in ecotoxicological evaluation of dairy sewage sludge[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2014, 174(4): 1434-1443.
- [4] Liu X F, Lin T C, Vadeboncoeur M A, et al. Root litter inputs exert greater influence over soil C than does aboveground litter in a subtropical natural forest [J]. *Plant and Soil*, 2019, 444(1/2): 489-499.
- [5] 卢胜旭, 许恩兰, 吴东梅, 等. 米楮人工林土壤微生物群落组成对凋落物输入的响应[J]. *森林与环境学报*, 2020, 40(1): 16-23.
- [6] Zhao Q, Classen A T, Wang W W, et al. Asymmetric effects of litter removal and litter addition on the structure and function of soil microbial communities in a managed pine forest[J]. *Plant and Soil*, 2016, 414(1/2): 81-93.
- [7] Wang Q K, He T X, Wang S L, et al. Carbon input manipulation affects soil respiration and microbial community composition in a subtropical coniferous forest [J]. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2013, 178/179: 152-160.
- [8] Brant J B, Myrold D D, Sulzman E W. Root controls on soil microbial community structure in forest soils[J]. *Oecologia*, 2006, 148(4): 650-659.
- [9] 刘浩凤. 亚热带米楮群落生态恢复中种间竞争研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2006.
- [10] Lin K M, Lyu M K, Jiang M H, et al. Improved allometric equations for estimating biomass of the three *Castanopsis carlesii* H. forest types in subtropical China[J]. *New Forests*, 2016, 48(1): 115-135.
- [11] 刘春华, 吴东梅, 刘雨晖, 等. 氮沉降对米楮天然林土壤有机碳及微生物群落结构的影响[J]. *林业科学研究*, 2021, 34(2): 42-49.
- [12] 孙和泰, 华伟, 祁建民, 等. 利用磷脂脂肪酸(PLFAs)生物标记法分析人工湿地根际土壤微生物多样性[J]. *环境工程*, 2020, 38(11): 103-109.
- [13] 字洪标, 向泽宇, 王根绪, 等. 青海不同林分土壤微生物群落结构(PLFA)[J]. *林业科学*, 2017, 53(3): 21-32.
- [14] 邹秉章. 间伐和套种对杉木人工林土壤理化性质及微生物的影响[J]. *亚热带资源与环境学报*, 2020, 15(4): 40-46.
- [15] 王芳, 图力古尔. 土壤真菌多样性研究进展[J]. *菌物研究*, 2014, 12(3): 178-186.
- [16] Fanin N, Kardol P, Farrell M, et al. The ratio of Gram-positive to Gram-negative bacterial PLFA markers as an indicator of carbon availability in organic soils [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 128: 111-114.
- [17] 李秋梅, 黎胜杰, 王欣丽, 等. 改变碳输入对沂蒙山区典型次生林土壤微生物碳源代谢功能的影响[J]. *生态学报*, 2021, 41(10): 1-10.
- [18] Kotroczó Z, Veres Z, Fekete I, et al. Soil enzyme activity in response to long-term organic matter manipulation[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70: 237-243.
- [19] 张磊, 贾淑娴, 李啸灵, 等. 凋落物和根系输入对亚热带米楮天然林土壤有机碳组分的影响[J]. *水土保持学报*, 2021, 35(3): 244-251.
- [20] 桑昌鹏, 万晓华, 余再鹏, 等. 凋落物和根系去除对滨海沙地土壤微生物群落组成和功能的影响[J]. *应用生态学报*, 2017, 28(4): 1184-1196.
- [21] 韩世忠, 高人, 李爱萍, 等. 中亚热带地区米楮天然林土壤微生物群落结构的多样性[J]. *热带亚热带植物学报*, 2015, 23(6): 653-661.
- [22] Geisseler D, Scow K M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms: A review[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 75: 54-63.
- [23] Keil R G, Montluçon D B, Prah F G, et al. Sorptive preservation of labile organic matter in marine sediments[J]. *Nature*, 1994, 370(6490): 549.
- [24] 熊丽, 杨玉盛, 万菁娟, 等. 可溶性有机碳在土壤剖面淋溶过程中的分馏[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(5): 1289-1296.
- [25] Lal R. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security[J]. *Science*, 2004, 304(5677): 1623-1627.
- [26] Zhang J B, Cai Z C, Zhu T B, et al. Mechanisms for the retention of inorganic N in acidic forest soils of southern China[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3: e2342.
- [27] Wei Y, Wang Z Q, Zhang X Y, et al. Enzyme activities and microbial communities in subtropical forest soil aggregates to ammonium and nitrate-nitrogen additions[J]. *Journal of Resources and Ecology*, 2017, 8(3): 258-267.