

氮添加对南亚热带常绿阔叶林土壤微生物群落结构的影响

倪 壮^{1,2} 聂彦霞¹ 欧阳胜男^{1,2} 申卫军^{1*}

(¹中国科学院华南植物园退化生态系统恢复与管理重点实验室, 广州 510650; ²中国科学院大学, 北京 100049)

摘要 土壤微生物是生态系统元素循环的重要驱动者,但目前对我国南亚热带常绿阔叶林土壤微生物群落结构如何响应本区域迅速增加的氮(N)沉降的认识还比较薄弱。为此,在中国南亚热带鼎湖山自然保护区布设了一个野外模拟氮沉降实验,研究4种不同施氮水平(0(CK)、35(LN)、70(MN)、105(HN) $\text{kg}^{-1} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)下土壤微生物群落结构的响应及其影响因素。持续施氮3年后,分干、湿季(1、7月)采表层(0~10 cm)土壤样品,运用磷脂脂肪酸(PLFA)方法对土壤微生物群落结构进行了测定。结果发现:(1)施氮显著增加了微生物生物量。随施氮水平升高,主要微生物类群(细菌、放线菌、真菌)的生物量都增加,但细菌仍然是土壤微生物中的优势类群。(2)施氮对微生物的促进作用具有明显的季节差异。干季MN的促进作用最显著,而湿季HN下微生物生物量达到最大值。干季所有土壤微生物的生物量始终显著高于湿季。(3)施氮和季节均改变了土壤微生物的群落组成。干季土壤微生物的群落组成主要受可溶性有机碳和土壤含水量的影响,而湿季主要受pH和有效氮、磷含量的影响。以上结果表明,南亚热带地区氮添加增加会改变土壤微生物的群落组成,且施氮的影响具有明显的季节差异,进而可能影响这些微生物驱动的关键生态过程。因此,探究氮沉降对南亚热带常绿阔叶林的影响,需要综合考虑氮沉降水平、季节和微生物的响应等多种因素。

关键词 氮沉降; 亚热带森林; 土壤微生物; 磷脂脂肪酸; 营养循环; 生态系统过程

Effects of nitrogen addition on soil microbial community structure in a subtropical evergreen broadleaved forest. NI Zhuang^{1,2}, NIE Yan-xia¹, OUYANG Sheng-nan^{1,2}, SHEN Wei-jun^{1*} (¹Key Laboratory of Vegetation Restoration and Management of Degraded Ecosystems, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; ²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China).

Abstract: Soil microorganisms are key drivers of ecological processes such as nutrient cycling. However, our understanding of how soil microbes respond to elevated atmospheric nitrogen (N) deposition in Chinese subtropical evergreen broadleaved forests is still very limited. A field N addition experiment was conducted to study the responses and influencing factors of soil microbes to simulated N deposition in the Dinghushan Biosphere Reserve (DHSBR), Guangdong, China. Surface soil samples (0–10 cm) under four N treatment levels (0 (CK), 35 (LN), 70 (MN) and 105 (HN) $\text{kg}^{-1} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$) were collected in the dry (January) and wet (July) seasons. Soil microbial community structure was analyzed using the phosphorous fatty acids (PLFAs) method. Our results showed that: (1) N addition significantly enhanced the PLFAs biomass of the dominant microbial groups including bacteria, actinomycetes and fungi, with bacteria being the most abundant group; (2) There were obvious seasonal differences in microbial responses to N addition. Although the PLFAs were always higher in the dry than wet season, the moderate N addition (MN) treatment had the largest impact on microbial biomass in the dry season while the

high N addition (HN) had the largest impact in the wet season; (3) Both N addition and season imposed significant impacts on microbial community composition. Dissolved organic carbon content and soil water content were the most influencing factors regulating microbial community in the dry season, while soil pH and available N and P contents played the important role in the wet season. Our results indicate that elevated N deposition in the subtropical China may exert seasonally differentiated impacts on soil microbial communities, and thus key ecological processes. A comprehensive consideration of N deposition level, season, and soil microbial responses is critically important when studying the effects of atmospheric N deposition on the evergreen broad-leaved forest in the region.

Key words: nitrogen deposition; subtropical forest; soil microbes; phospholipid fatty acids; nutrient cycling; ecological process.

随着经济和农业的发展,中国已经成为继欧洲、北美之后的世界第三大氮沉降区(周薇等,2010);与欧洲最高的氮沉降速率已经十分接近。长期的、过量的氮沉降会对生态系统产生诸多负面影响,如改变其群落结构和功能,减少土壤呼吸速率,改变微生物对底物的利用方式,降低土壤酶活性等(Compton *et al.*, 2004; Frey *et al.*, 2004; Waldrop *et al.*, 2004)。土壤微生物作为生态系统的重要组成部分,是物质循环、能量流动的重要参与者,在C、N循环过程中扮演重要的作用(Xu *et al.*, 2010),它们的多样性、组成和活动也深刻地影响着生物地球化学循环、有机质周转及土壤状况(Van Der Heijden *et al.*, 2008; Mangan *et al.*, 2010)。因此探究微生物的生物量和群落组成对氮沉降的响应,有助于深入理解和准确预测氮沉降对微生物、物质循环乃至整个生态系统的影响。

已有的研究表明,氮添加会改变微生物群落的多样性和群落结构(Wallenda *et al.*, 1998; Allison *et al.*, 2008)。但是目前大部分关于氮沉降对微生物群落的研究多集中在草地、北部森林和温带森林等氮限制的生态系统中(袁颖红等,2013; Zhao *et al.*, 2014; 王长庭等,2017),大部分研究表明施氮会降低微生物的生物量(Treseder, 2008; Zhao *et al.*, 2014; 王长庭等,2017),而对处于亚热带高氮沉降区的常绿阔叶林的相关研究较少(Lu *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2015; Mao *et al.*, 2017; Tian *et al.*, 2017)。

常绿阔叶林是我国面积最大,最具代表性的森林类型(闫传海等,1995; Wang *et al.*, 2007; Lin *et al.*, 2012),同时也是我国碳汇潜力最大的植被生态系统(Fang *et al.*, 2001; Piao *et al.*, 2009)。我国长江以南的常绿阔叶林区也是人口密集、经济发展迅速的区域,大气氮沉降速率增加迅速,尤其是东南沿海

如广东、福建等地。地处经济发达的珠江三角洲北缘的鼎湖山自然保护区,降水氮沉降量达 $35.6 \sim 38.4 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ (黄忠良等,1994;周国逸等,2001)。关于南亚热带常绿阔叶林对氮沉降增加的响应也开展了很多研究,比如,氮沉降对植物多样性、元素循环、碳氮储量等的相关研究(Fang *et al.*, 2001; Lu *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2012; Zhu *et al.*, 2013),但关于氮沉降增加对该森林类型中土壤微生物群落结构的认识还比较薄弱(Chen *et al.*, 2013; 郑棉海等,2015)。Chen等(2013)探究了鼎湖山常绿阔叶林中氮沉降对凋落物降解相关的微生物的影响,而郑棉海等(2015)研究了土壤酸性磷酸单酯酶活性对氮肥添加的响应。目前关于氮添加对该地区常绿阔叶林中土壤微生物群落组成方面的影响还缺乏认识。

本文依据环境大气氮沉降的背景值(Fang *et al.*, 2014),设置4个施氮处理,运用磷脂脂肪酸(PLFA)法测定土壤微生物群落结构,探究亚热带常绿阔叶林土壤微生物对模拟氮沉降的响应特征和影响因素,以便能够更准确地理解氮沉降对土壤、森林生态系统的影响,对该地区的森林保护及管理、氮沉降的治理提供科学依据。

1 研究地区与研究方法

1.1 研究区域概况

研究样地位于广东省肇庆市鼎湖山自然保护区(DHSNR, $112^{\circ}33' \text{ E}$, $23^{\circ}10' \text{ N}$),占地面积约为 1155 hm^2 。该地区气候类型为季风性气候,年均降雨量为 1927 mm ,75%的降水主要集中在3—8月(湿季),而12—2月的降水仅占6%,具有明显的干、湿季节。年均温为 $21.4 \text{ }^{\circ}\text{C}$,最冷月(1月)和最热月(7月)的平均温度分别为 12.6 和 $28.0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (Huang

et al., 1982)。

该保护区内处于顶级演替的季风常绿阔叶林是该地区的代表性森林类型,其结构复杂,包含5个植被层。乔木层优势树种有黄果厚壳桂(*Cryptocarya concinna*)、木荷(*Schima superba*)和锥栗(*Castanopsis chinensis*),灌木层包括九节(*Psychotria rubra*)和罗伞树(*Ardisia quinquegona*)等组成,还有众多的草本和蕨类植物。土壤为砂质母岩形成的赤红壤(Lu *et al.*, 2010)。

1.2 实验设计与样品采集

通过大气沉降到地表的氮素形式主要是硝酸铵(NH_4NO_3) (Fierer *et al.*, 2012),鼎湖山的大气氮沉降量为 $33.5 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ (Fang *et al.*, 2014)。本实验样地建于季风常绿阔叶林中,于2014年9月开始进行施氮处理,采用随机区组设计的方法设置了对照(CK, $0 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)、低氮(LN, $35 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)、中氮(MN, $70 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)和高氮(HN, $105 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)4个水平的模拟氮沉降实验,每种处理设置3个重复样方,每个样方为 $15 \text{ m} \times 15 \text{ m}$,样方之间的缓冲带为10 m。每月月末以20 L水溶解相应量的 NH_4NO_3 ,以喷洒形式在林下施加,CK样方喷洒了相同量的水。

于2017年1月中旬(干季)和7月中旬(湿季)进行采样。除去表层凋落物后,用土钻(直径3.8 cm)钻取表层0~10 cm的土壤,在每个样方内随机取6钻土,混匀后作为一个样本,共采集24个土壤样本。采集后立即用冰袋保存,当天运回实验室,及时将土样过2 mm筛并手动挑除土样中的根系等杂质,分装保存。一部分风干用于土壤理化性质的测定,一部分-80 °C保存,一周内用于PLFA的测定。

1.3 实验指标测定

1.3.1 土壤理化性质的测定

土壤含水量(SWC)的测定用烘干法,土壤pH的测定用电位法(水:土=2.5:1)。土壤硝态氮(NO_3^- -N)测定用双波长法,铵态氮(NH_4^+ -N)的测定用靛酚蓝比色法,有效磷(AP)的测定用氟化铵-盐酸浸提法测定,全氮(TN)用凯氏定氮法测定,全磷(TP)用钼锑抗比色法测定,可溶性有机碳(DOC)用重铬酸钾-油浴法测定(鲍士旦, 2010)。

1.3.2 土壤 PLFA 的测定

称取8.00 g真空冷冻干燥的土壤用于PLFA的提取。提取方法是基于Bligh等(1959)改善的简单提取法(颜慧等, 2006),主要过程包括:脂类提取(氯仿:甲醇:磷酸缓冲

液的比例为1:2:0.8)、固相抽提分离得到磷脂、磷脂的碱性甲酯化(甲醇:甲苯为1:1, $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钾)。最后得到磷脂脂肪酸甲酯,采用气质联用色谱仪(Agilent Technologies, CA, USA),以酯化的C19:0作为内标,计算所有指征特定微生物的PLFA的摩尔浓度($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 干土)。参照已有的文献进行PLFA的分类。真菌(Fungi, F)由16:1 w5c、18:2 w6c、18:1 w9c表征,丛枝菌根真菌(AMF)由16:1 w5c表征,放线菌(Actinomycetes, A)由10Me 16:0、10Me 17:0、10Me 18:0表征,革兰氏阳性菌(Gram-positive bacteria, GP)的标志性PLFA包括i14:0、i15:0、a15:0、i16:0、i17:0、a17:0,革兰氏阴性菌(Gram-negative bacteria, GN)的标志性PLFA包括16:1 w7c、18:1 w7c、17:0 c、c19:0 w8c,细菌(Bacteria, B)的标志性PLFA包括i14:0、i15:0、a15:0、i16:0、i17:0、16:1 w7c、18:1 w7c、17:0 c、c19:0 w8c、17:0 a (Frostegård *et al.*, 1996; Waldrop *et al.*, 2000; Brant *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2016)。

1.4 数据分析

所有数据在进行各种分析前,进行方差同质性检验;对于方差不齐的数据,进行转化。用SPSS 19.0进行单因素方差分析,检验不同季节4种施氮处理条件下土壤理化性质之间的差异。方差齐性的数据采用最小差异显著法(LSD)进行差异显著性分析,方差不齐的数据采用事后检验法(Tamhane)检测差异是否显著。用双因素重复测量方差分析检验施氮、季节和两者之间交互作用对土壤理化性质及微生物PLFA含量的影响。用Canoco 5.0分析土壤理化性质对土壤微生物群落组成的影响,采用蒙特卡罗检验土壤理化性质对土壤微生物群落组成的显著性。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质的变化

在干季和湿季,与对照(CK)相比,施氮使得土壤硝态氮(NO_3^- -N)、有效磷(AP)、可溶性有机碳(DOC)的含量都显著增加($P < 0.05$, 表1),而pH随着施氮水平的增加而显著降低。不同季节对土壤理化性质也有显著影响,干季的AP、DOC、土壤含水量(SWC)、有效氮/有效磷(AN/AP)都显著低于湿季的相应指标,干季pH明显高于湿季($P < 0.05$, 表1)。

表 1 不同实验处理条件下土壤理化性质 ($n=3$) 及双因素重复测量方差分析 ($n=6$)Table 1 Soil physicochemical properties under different treatments ($n=3$) and two-way ANOVAs ($n=6$)

		硝态氮	有效磷	可溶性有机碳		pH		土壤含水量		有效氮/有效磷		铵态氮/硝态氮			
		($\text{NO}_3^- \text{-N}$) ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	(AP) ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	(DOC) ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)				(SWC) (%)		(AN/AP)		(NH ₄ ⁺ -N/ NO ₃ ⁻ -N)			
干季	对照 (CK)	8.15±0.66 b	0.34±0.01 b	35.08±5.42 a		4.02±0.01 a		29.23±0.42 a		25.33±4.20 a		0.19±0.03 a			
	低氮 (LN)	10.37±0.32 ab	0.42±0.03 a	47.63±6.48 a		3.98±0.06 ab		28.67±0.08 a		28.40±1.58 a		0.16±0.04 a			
	中氮 (MN)	9.60±1.53 ab	0.47±0.04 a	42.15±0.47 a		3.88±0.02 b		26.96±1.44 a		27.57±6.58 a		0.31±0.09 a			
	高氮 (HN)	11.32±0.70 a	0.30±0.01 b	36.50±5.77 a		3.93±0.02 ab		27.53±0.98 a		34.92±7.86 a		0.14±0.05 a			
湿季	对照 (CK)	7.12±0.73 b	0.42±0.07 c	52.64±5.84 a		3.78±0.03 a		41.43±1.24 a		22.11±4.69 a		0.25±0.11 a			
	低氮 (LN)	9.04±0.40 ab	1.29±0.05 bc	60.08±2.61 a		3.69±0.03 b		40.91±1.29 a		12.12±4.23 ab		0.12±0.01 a			
	中氮 (MN)	9.60±1.42 ab	8.68±0.59 a	63.07±0.72 a		3.60±0.01 c		39.78±3.01 a		3.38±2.62 b		0.11±0.00 a			
	高氮 (HN)	10.95±1.66 a	1.74±0.29 b	54.62±7.92 a		3.59±0.02 c		38.45±1.77 a		5.37±1.31 b		0.11±0.01 a			
显著性															
处理	自由度	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
施氮	3	3.69	0.06	6.13	0.04	2.79	0.11	16.04	<0.01	0.66	0.60	1.18	0.38	1.31	0.34
季节	1	0.86	0.38	10.52	0.01	17.34	<0.01	123.65	<0.01	337.75	<0.01	27.86	<0.01	1.47	0.26
施氮×季节	3	0.17	0.92	2.96	0.10	0.18	0.91	0.63	0.61	0.38	0.77	2.72	0.12	1.93	0.20

表格内的数据表示平均值±标准误, $n=3$ 。不同的字母表示同一季节不同施氮处理之间差异显著 ($P<0.05$)。 $P<0.05$: 差异显著, $P<0.01$: 差异极显著。

2.2 土壤微生物 PLFAs 量的变化

施氮水平对土壤微生物 PLFA 有显著的影响, 随着施氮水平增加, 土壤微生物 PLFA 显著增加。且各微生物类群对氮添加的响应趋势一致, 都随着施氮水平增加而显著升高, 所以施氮对真菌/细菌没有显著影响 (图 1)。

不同季节对土壤微生物 PLFA 也有显著影响, 干季总 PLFAs、各类群微生物 PLFA 的含量都显著高于湿季。总 PLFAs 的最小值出现在湿季 CK 样方, 最大值出现在干季 MN 样方。

施氮与季节的双因素方差分析表明, 除了真菌/细菌, 施氮、季节以及两者的交互作用对总 PLFA 和不同类群的微生物 PLFA 含量都有极显著的影响 (图 1)。施氮对微生物 PLFA 的影响具有季节分异性。在干季, 与 CK 相比, MN 和 HN 明显增加了各微生物的 PLFA 的含量; 而在湿季, 与 CK 相比, LN 和 HN 对各微生物的 PLFA 的含量有显著的促进作用, 但其作用明显低于干季施氮处理的作用 (图 1)。

2.3 土壤微生物群落结构分析

进一步对微生物群落与土壤理化因子的关系进行冗余分析 (RDA) 发现 (图 2), $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 、AP、DOC、SWC、pH 和 AN/AP 对微生物群落组成的解释度可以达到 74.8%。干季和湿季沿着第一轴分布在不同的象限, 表明季节影响了微生物群落组成。施氮对微生物群落组成具有季节差异。在干季, 施氮处理 (LN、MN、HN) 与 CK 的微生物群落组成显著不同; 且 MN、HN 与 CK 差异最为显著。在湿季, LN、HN

与 CK 微生物群落组成显著不同, 但 MN 与 CK 没有显著不同。同时, 蒙特卡罗检验发现, DOC、SWC 与 pH 和 AN/AP 会显著影响微生物群落组成 ($P<0.05$) (表 2)。不同季节, 影响微生物群落组成的土壤理化因子不同。在干季, 微生物群落结构主要受到 DOC 和 SWC 的影响; 在湿季, 主要受到 pH 和 AN/AP 的影响。

表 2 冗余分析 (RDA) 分析蒙特卡罗检验

Table 2 Montal-Carlo test in RDA

土壤理化因子	Explains (%)	pseudo- <i>F</i>	<i>P</i>
SWC	62.5	36.7	<0.01
DOC	32.4	10.6	<0.01
AN/AP	29.3	9.1	<0.01
pH	23.4	6.7	0.02
$\text{NO}_3^- \text{-N}$	12.8	3.2	0.09
AP	9	2.2	0.14

$P<0.05$ 表示显著, $P<0.01$ 表示极显著。

3 讨论

3.1 氮添加对土壤理化性质的影响及其与微生物群落的关系

施氮会影响土壤理化性质, 包括 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 、AP、DOC、pH 等。Lu 等 (2011) 研究发现, 在受到干扰的森林中, 施氮会显著降低土壤 AP, 而在恢复林中, 施氮会使得土壤 AP 显著增加。而本研究发现, 施氮会使得土壤 AP 显著增加。造成这一差异的原因可能是施氮水平、森林类型等多种因素。Hagedorn 等 (2012) 和 Fang 等 (2014) 发现, 施氮会显著降低

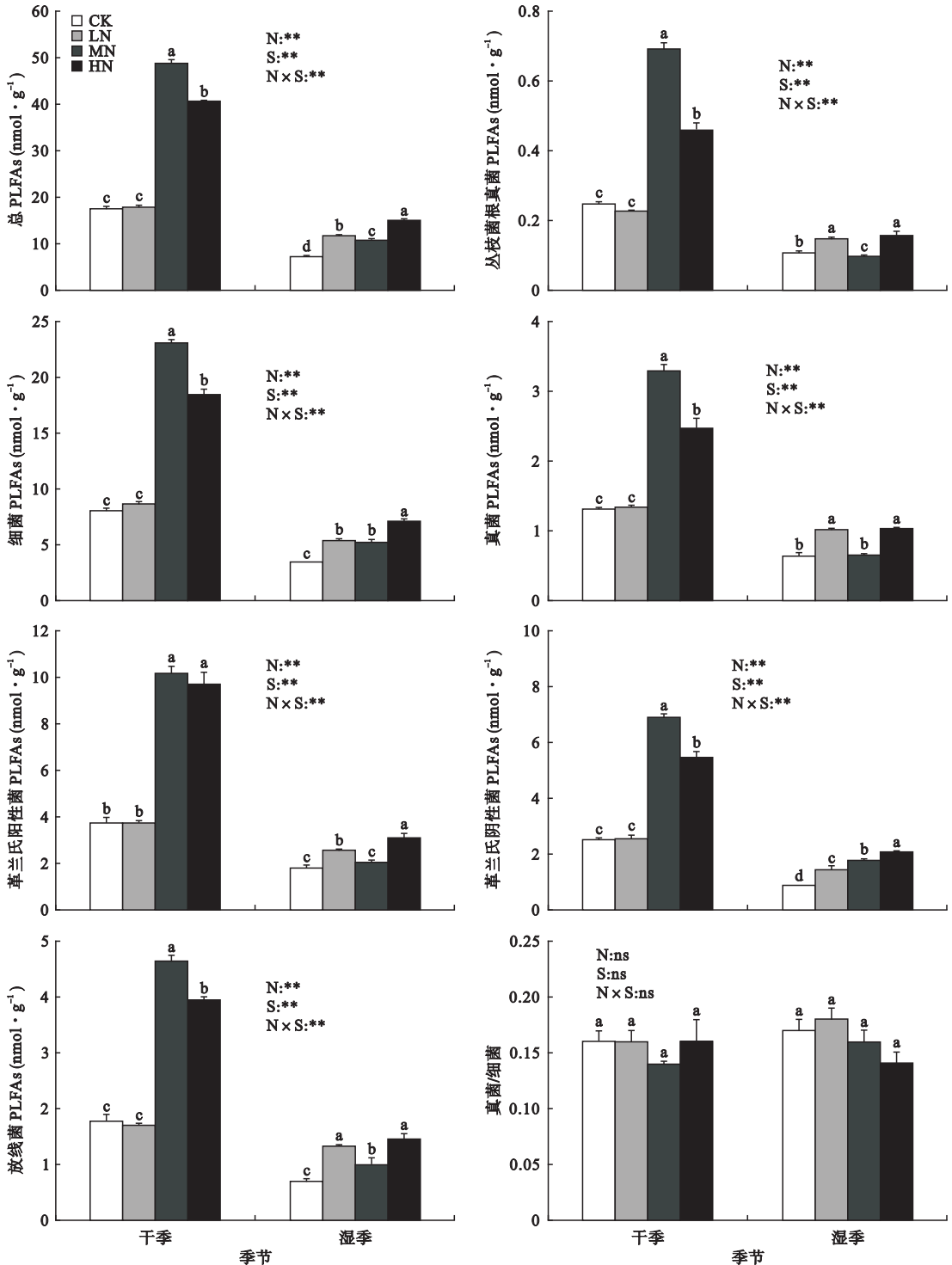


图 1 不同实验处理条件下,土壤微生物 PLFAs 量和真菌/细菌

Fig.1 PLFAs content of soil microbes and the ratio of fungi to bacteria under different treatments

$n=3$. CK:对照, LN:低氮, MN:中氮, HN:高氮。不同字母表示同一季节内不同施氮处理之间差异显著($P<0.05$)。N: 施氮, S: 季节, N×S: 施氮与季节的交互作用。ns 表示不显著, ** 表示极显著($P<0.01$)。

土壤 DOC 的含量,不利于该地区土壤 DOC 的积累,这与本研究结果相反。本研究发现,施氮对土壤 DOC 的影响主要表现在季节差异上,即湿季土壤 DOC 明显高于干季土壤 DOC。这一差异可能是由

于短期氮添加还没有对参与 DOC 循环代谢的微生物产生实质性的影响,也可能与凋落物的输入、水分、温度和 pH 的改变有关(Mulholland, 1990; Currie *et al.*, 1996; Tipping *et al.*, 1999; You *et al.*, 1999)。

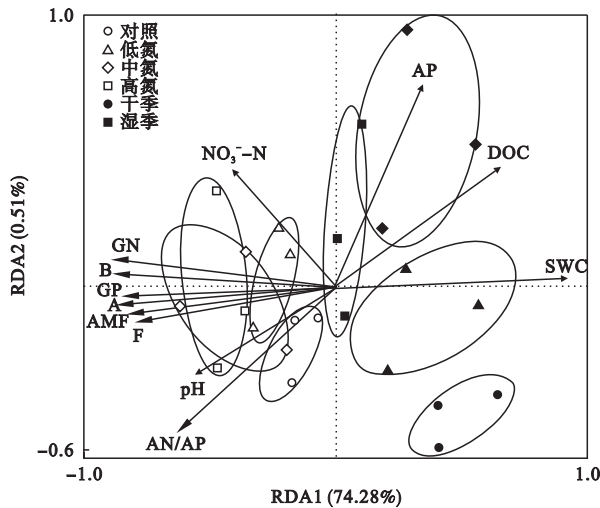


图2 土壤微生物 PLFAs 与土壤理化因子的冗余分析 (RDA)

Fig.2 Redundancy analysis (RDA) between soil microbial PLFAs and soil physicochemical properties

土壤作为一个巨大的“黑箱”,其中物质循环、能量流动、信息传递等过程相互耦合、相互影响,氮添加可能会引起许多其他理化性质的变化。

本研究发现,DOC、SWC、pH 和 AN/AP 都会对土壤微生物群落组成产生显著影响。Liu 等(2015)发现,在氮饱和的人工林中施氮使得微生物总 PLFAs 量高于对照样地,这与本研究的结果一致。吴华清等(2016)研究发现,土壤 pH 是影响土壤微生物生物量和群落结构变化的重要因子。黄幸然等(2016)发现,雨季影响土壤微生物群落组成的理化性质为土壤 pH 和含水率,旱季受全氮和全磷的影响。这与本研究的结果不同。造成这一结果可能有多方面的原因,比如该顶极演替系统的土壤结构特性、土壤微生物群落对环境胁迫的抗性和生态系统自身的调节能力等(Li *et al.*, 2013)以及树种、施氮水平、环境氮沉降的差异等多种因素,都会对土壤理化性质影响,进而对土壤微生物产生直接或者间接的影响。

3.2 土壤微生物群落结构对氮添加的响应及季节分异

一般认为,氮添加会对微生物产生消极影响(Arnebrant *et al.*, 1996; Balsler *et al.*, 2001; Frey *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2015)。Frey 等(2004)在长期施氮的哈佛森林中的研究中发现,施氮使得阔叶林和松林中真菌生物量降低,施氮明显降低真菌/细菌生物量比率。Balsler 等(2001)和 Liu 等(2015)发现,氮添加对微生物的群落结构产生了显著影响。本研

究发现,在氮沉降水平较高的南亚热带常绿阔叶林中,与对照样地相比,3年的施氮处理对所有类群的土壤微生物的生物量具有显著的促进作用,并使得土壤微生物群落结构发生变化。这说明短期内本实验水平的氮添加没有成为该生态系统中土壤微生物生长和繁殖的限制因子。但施氮并没有显著改变真菌/细菌,这与之前的研究不一致(Wallenstein, 2003)。氮添加对微生物群落组成的影响较为复杂。不同类群微生物对营养元素的需求不同,对不同环境因子影响的耐受能力和响应行为也存在差异。另外,本研究中,湿季微生物群落结构受到 AN/AP 的显著影响。因此,随着施氮水平的增加,磷可能成为限制土壤微生物生长繁殖的限制因子(Vitousek, 1984)。

本研究发现,微生物的生物量和群落组成存在明显的季节分异。干季土壤微生物的生物量显著高于湿季,且施氮对生物量的影响在干季明显大于湿季。这与黄幸然等(2016)和李南洁等(2017)的研究结果一致。可能有两方面的原因:一方面可能是,湿季的温度超过了土壤微生物的最适温度,使得微生物的生长和活性受到限制(Wang *et al.*, 2014);另一方面是,干、湿季节 SWC 存在差异。水作为土壤微生物自身的重要组成部分,会影响微生物的生理特性,进而对许多物质的循环过程产生影响(Schimel *et al.*, 1996)。有研究表明,氮沉降对土壤微生物群落的影响与水文状况密切相关(Grizzle *et al.*, 2010; Bi *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2015)。在大气氮沉降严重的南亚热带常绿阔叶林中,季节对土壤微生物的影响及其季节导致的降水变化对微生物影响,还有待于进一步探究。

4 结论

在氮沉降严重的南亚热带常绿阔叶林中,短期氮添加明显促进了土壤微生物的生物量,改变了土壤微生物群落结构,并且具有明显的季节差异。在干季,DOC 和 SWC 对土壤微生物群落组成有显著影响;而在湿季,pH 和 AN/AP 会显著影响土壤微生物群落组成。这说明,在氮沉降严重的南亚热带常绿阔叶林中,施氮会影响土壤微生物群落组成,且施氮的影响具有季节差异。短期施氮主要通过影响土壤理化性质,间接对土壤微生物产生影响。因此在探讨氮沉降对生态系统的影响时,需要考虑到季节、施氮水平和施氮期限等多种因素。

参考文献

- 鲍士旦. 2010. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社.
- 黄幸然, 郭萍萍, 吴旺旺, 等. 2016. 模拟氮沉降增加对不同树种土壤微生物群落结构的影响. *生态学杂志*, **35**(6): 1420-1426.
- 黄忠良, 丁明懋, 张祝平, 等. 1994. 鼎湖山季风常绿阔叶林的水文学过程及其氮素动态. *植物生态学报*, **18**(2): 194-199.
- 李南洁, 曾清苹, 何丙辉, 等. 2017. 缙云山柑橘林土壤微生物磷脂脂肪酸(PLFAs)及酶活性的季节变化特征. *环境科学*, **38**(1): 309-317.
- 王长庭, 王根绪, 李香真, 等. 2017. 氮肥添加对高寒藏高草(*Kobresia tibetica*)沼泽化草甸和土壤微生物群落的影响. *生态学报*, **37**(2): 405-415.
- 吴华清, 陈小梅, 林媚珍, 等. 2016. 降水处理对南亚热带季风林土壤微生物群落结构的影响. *生态环境学报*, **25**(4): 583-590.
- 闫传海, 张 绅, 宋永昌. 1995. 南京地区森林植被性质的初步研究. *植物生态学报*, **19**(3): 280-285.
- 颜 慧, 蔡祖聪, 钟文辉. 2006. 磷脂脂肪酸分析方法及其在土壤微生物多样性研究中的应用. *土壤学报*, **43**(5): 851-859.
- 袁颖红, 樊后保, 刘文飞, 等. 2013. 模拟氮沉降对杉木人工林(*Cunninghamia lanceolata*)土壤酶活性及微生物群落功能多样性的影响. *土壤*, **45**(1): 120-128.
- 郑棉海, 黄 娟, 陈 浩, 等. 2015. 氮、磷添加对不同林型土壤磷酸酶活性的影响. *生态学报*, **35**(20): 6703-6710.
- 周 薇, 王 兵, 李钢铁. 2010. 大气氮沉降对森林生态系统影响的研究进展. *中央民族大学学报: 自然科学版*, **19**(1): 34-40.
- 周国逸, 闫俊华. 2001. 鼎湖区域大气降水特征和物质元素输入对森林生态系统存在和发育的影响. *生态学报*, **21**(12): 2002-2012.
- Allison SD, Czimczik CI, Treseder KK. 2008. Microbial activity and soil respiration under nitrogen addition in Alaskan boreal forest. *Global Change Biology*, **14**: 1156-1168.
- Arnebrant K, Baath E, Soderstrom B, et al. 1996. Soil microbial activity in eleven Swedish coniferous forests in relation to site fertility and nitrogen fertilization. *Scandinavian Journal of Forest Research*, **11**: 1-6.
- Balser TC, Galloway J, Cowling E, et al. 2001. The impact of long-term nitrogen addition on microbial community composition in three Hawaiian forest soils. *The Scientific World Journal*, **1**(Suppl 2): 500.
- Bi J, Zhang N, Liang Y, et al. 2012. Interactive effects of water and nitrogen addition on soil microbial communities in a semiarid steppe. *Journal of Plant Ecology*, **5**: 320-329.
- Bligh EG, Dyer WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry & Physiology*, **37**: 911.
- Brant JB, Sulzman EW, Myrold DD. 2006. Microbial community utilization of added carbon substrates in response to long-term carbon input manipulation. *Soil Biology & Biochemistry*, **38**: 2219-2232.
- Chen H, Dong S, Liu L, et al. 2013. Effects of experimental nitrogen and phosphorus addition on litter decomposition in an old-growth tropical forest. *PLoS ONE*, **8**: e84101.
- Compton JE, Watrud LS, Porteous LA, et al. 2004. Response of soil microbial biomass and community composition to chronic nitrogen additions at Harvard forest. *Forest Ecology and Management*, **196**: 143-158.
- Currie WS, Aber JD, McDowell WH, et al. 1996. Vertical transport of dissolved organic C and N under long-term N amendments in pine and hardwood forests. *Biogeochemistry*, **35**: 471-505.
- Fang H, Cheng S, Yu G, et al. 2014. Experimental nitrogen deposition alters the quantity and quality of soil dissolved organic carbon in an alpine meadow on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Applied Soil Ecology*, **81**: 1-11.
- Fang JY, Chen AP, Peng CH, et al. 2001. Changes in forest biomass carbon storage in China between 1949 and 1998. *Science*, **292**: 2320-2322.
- Fierer N, Lauber CL, Ramirez KS, et al. 2012. Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. *ISME Journal*, **6**: 1007-1017.
- Frey SD, Knorr M, Parrent JL, et al. 2004. Chronic nitrogen enrichment affects the structure and function of the soil microbial community in temperate hardwood and pine forests. *Forest Ecology and Management*, **196**: 159-171.
- Frostegård A, Bååth E. 1996. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*, **22**: 59-65.
- Grizzle HW, Gestel NCV, Robertson TR, et al. 2010. Microbial functional diversity profiles in response to simulated nitrogen deposition and variable precipitation in the Chihuahuan Desert Big Bend National Park, 334.
- Hagedorn F, Kammer A, Schmidt MWI, et al. 2012. Nitrogen addition alters mineralization dynamics of ¹³C-depleted leaf and twig litter and reduces leaching of older DOC from mineral soil. *Global Change Biology*, **18**: 1412-1427.
- Huang ZF, Fan ZG. 1982. The Climate of Dinghushan. *Tropical and Subtropical Forest Ecosystem*, **1**: 11-13.
- Huang WJ, Zhou GY, Liu JX. 2012. Nitrogen and phosphorus status and their influence on aboveground production under increasing nitrogen deposition in three successional forests. *Acta Oecologica*, **44**: 20-27.
- Li F, Liu M, Li Z, et al. 2013. Changes in soil microbial biomass and functional diversity with a nitrogen gradient in soil columns. *Applied Soil Ecology*, **64**: 1-6.
- Li J, Li Z, Wang F, et al. 2015. Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil microbial community in a secondary tropical forest of China. *Biology and Fertility of Soils*, **51**: 207-215.
- Lin DM, Lai JS, Helene C, et al. 2012. Topographic variation

- in aboveground biomass in a subtropical evergreen broad-leaved forest in China. *PLoS ONE*, **7**: e48244.
- Liu L, Gundersen P, Zhang W, *et al.* 2015. Effects of nitrogen and phosphorus additions on soil microbial biomass and community structure in two reforested tropical forests. *Scientific Reports*, **5**: 14378.
- Lu X, Gilliam FS, Yu G, *et al.* 2013. Long-term nitrogen addition decreases carbon leaching in a nitrogen-rich forest ecosystem. *Biogeosciences*, **10**: 3931–3941.
- Lu XK, Mo JM, Frank S, *et al.* 2011. Nitrogen addition shapes soil phosphorus availability in two reforested tropical forests in Southern China. *Biotropica*, **44**: 302–311.
- Lu XK, Mo JM, Gilliam, FS, *et al.* 2010. Effects of experimental nitrogen additions on plant diversity in an old-growth tropical forest. *Global Change Biology*, **16**: 2688–2700.
- Mangan SA, Schnitzer SA, Herre EA, *et al.* 2010. Negative plant-soil feedback predicts tree-species relative abundance in a tropical forest. *Nature*, **466**: 752–755.
- Mao Q, Lu X, Zhou K, *et al.* 2017. Effects of long-term nitrogen and phosphorus additions on soil acidification in an N-rich tropical forest. *Geoderma*, **285**: 57–63.
- Mulholland P. 1990. What are the temporal and spatial variations of organic acids at the ecosystem level// Perdue EM, Gjessing ET, eds. *Organic Acids in Aquatic Ecosystems*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd: 315–330.
- Piao SL, Fang JY, Ciais P, *et al.* 2009. The Carbon balance of terrestrial ecosystems in China. *Nature*, **458**: 1009–1013.
- Schimel DS, Braswell BH, Mckeown R, *et al.* 1996. Climate and nitrogen controls on the geography and timescales of terrestrial biogeochemical cycling. *Global Biogeochemical Cycles*, **10**: 677–692.
- Tian D, Jiang L, Ma S, *et al.* 2017. Effects of nitrogen deposition on soil microbial communities in temperate and subtropical forests in China. *Science of the Total Environment*, **607–608**: 1367–1375.
- Tippling E, Woof C, Rigg E, *et al.* 1999. Climatic influences on the leaching of dissolved organic matter from upland UK moorland soils, investigated by a field manipulation experiment. *Environment International*, **25**: 83–96.
- Treseder KK. 2008. Nitrogen additions and microbial biomass: A meta-analysis of ecosystem studies. *Ecology Letters*, **11**: 1111–1120.
- Van Der Heijden MGA, Bardgett RD, Van Straalen NM. 2008. The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, **11**: 296–310.
- Vitousek PM. 1984. Litterfall, nutrient cycling, and nutrient limitation in tropical forests. *Ecology*, **65**: 285–298.
- Waldrop MP, Balsler TC, Firestone MK. 2000. Linking microbial community composition to function in a tropical soil. *Soil Biology & Biochemistry*, **32**: 1837–1846.
- Waldrop MP, Zak DR, Sinsabaugh RL. 2004. Microbial community response to nitrogen deposition in northern forest ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*, **36**: 1443–1451.
- Wallenda T, Kottke I. 1998. Nitrogen deposition and ectomycorrhizas. *New Phytologist*, **139**: 169–187.
- Wallenstein MD. 2003. Effects of nitrogen fertilization on soil microbial communities. *Geophysical Research Abstracts*, **5**: 13087.
- Wang H, Yang JP, Yang SH, *et al.* 2014. Effect of a 10 °C-elevated temperature under different water contents on the microbial community in a tea orchard soil. *European Journal of Soil Biology*, **62**: 113–120.
- Wang X, Kent M, Fang X, *et al.* 2007. Evergreen broad-leaved forest in Eastern China: Its ecology and conservation and the importance of resprouting in forest restoration. *Forest Ecology and Management*, **245**: 76–87.
- Xu Z, Wan C, Xiong P, *et al.* 2010. Initial responses of soil CO₂, efflux and C, N pools to experimental warming in two contrasting forest ecosystems, Eastern Tibetan Plateau, China. *Plant and Soil*, **336**: 183–195.
- You SJ, Yin Y, Allen HE. 1999. Partitioning of organic matter in soils: Effects of pH and water/soil ratio. *Science of the Total Environment*, **227**: 155–160.
- Zhang N, Wan S, Guo J, *et al.* 2015. Precipitation modifies the effects of warming and nitrogen addition on soil microbial communities in northern Chinese grasslands. *Soil Biology & Biochemistry*, **89**: 12–23.
- Zhao C, Zhu L, Liang J, *et al.* 2014. Effects of experimental warming and nitrogen fertilization on soil microbial communities and processes of two subalpine coniferous species in Eastern Tibetan Plateau, China. *Plant and Soil*, **382**: 189–201.
- Zhao Q, Jian S, Nunan N, *et al.* 2016. Altered precipitation seasonality impacts the dominant fungal but rare bacterial taxa in subtropical forest soils. *Biology and Fertility of Soils*, **53**: 1–15.
- Zhu FF, Yoh M, Gilliam FS, *et al.* 2013. Nutrient limitation in three lowland tropical forests in southern China receiving high nitrogen deposition: Insights from fine root responses to nutrient additions. *PLoS ONE*, **8**: e82661.

作者简介 倪 壮,女,1992年生,硕士研究生,微生物生态学。E-mail: nizhuang0528@scbg.ac.cn

责任编辑 魏中青
