

刘岳, 刘旭军, 宋雨婷, 列志旻, 周曙仡聃, 苏炜, 刘菊秀. 氮沉降和降水格局变化对南亚热带森林土壤微生物群落的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2023, 29 (3): 617-623

Liu Y, Liu XJ, Song YT, Lie ZY, Zhou SYD, Su W, Liu JX. Effects of nitrogen deposition and precipitation pattern change on soil microbial communities in a southern subtropical forest [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2023, 29 (3): 617-623

氮沉降和降水格局变化对南亚热带森林土壤微生物群落的影响

刘岳^{1,2} 刘旭军^{1,2} 宋雨婷^{1,2} 列志旻¹ 周曙仡聃¹ 苏炜¹ 刘菊秀¹✉

¹中国科学院华南植物园, 中国科学院退化生态系统植被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 南亚热带地区正面临氮沉降加剧和降水格局变化的双重挑战, 深刻影响着生态系统的稳定性. 土壤微生物是维系陆地生态系统地上-地下相互作用的纽带, 对全球变化响应敏感. 为探究土壤微生物对氮沉降和降水格局变化及其交互作用的响应, 采用开顶箱 (open-top-chamber, OTC) 设计模拟南亚热带森林生态系统, 并设置对照 (CK)、降水格局变化 (DD)、氮沉降增加一倍 (AN) 和氮沉降增加一倍+降水格局变化交互 (ANDD) 4种处理, 采用磷脂脂肪酸 (phospholipid fatty acid, PLFA) 法测定土壤微生物群落结构. 结果显示, AN处理显著影响了微生物总PLFAs量和各微生物类群PLFAs量, 表现为干季增加而湿季降低; DD处理对微生物总PLFAs量和各微生物类群PLFAs量无显著影响; ANDD处理增加了干季微生物总PLFAs量、真菌和革兰氏阳性菌PLFAs量, 降低了湿季微生物总PLFAs量和真菌PLFAs量. DD、AN和ANDD处理对干、湿季土壤真菌/细菌 (F/B) 和革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌 (G^+/G^-) 均无显著影响, 且不改变整体微生物群落结构. 相关性分析发现, 土壤微生物在干季主要受土壤pH、含水量和有机碳的影响, 在湿季受土壤铵态氮和硝态氮的影响. 本研究结果表明氮沉降和降水格局变化对微生物PLFAs量表现出明显的拮抗作用, 但对微生物群落结构无显著影响; 因此, 仅考虑氮沉降单一因素影响可能会高估土壤微生物对全球变化的响应, 而全球变化因子间的互补机制可能是限制土壤微生物对全球变化响应的重要因素. (图2 表3 参47)

关键词 微生物群落结构; 磷脂脂肪酸; 氮沉降; 降水格局变化; 森林生态系统

Effects of nitrogen deposition and precipitation pattern change on soil microbial communities in a southern subtropical forest

LIU Yue^{1,2}, LIU Xujun^{1,2}, SONG Yuting^{1,2}, LIE Zhiyang¹, ZHOU Shuyidan¹, SU Wei¹ & LIU Juxiu¹✉

¹CAS Key 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 High nitrogen deposition and changing precipitation patterns occur in the southern subtropics and profoundly affect forest ecosystem stability. Soil microorganisms, which maintain the aboveground-underground interactions of terrestrial ecosystems, are sensitive to climate change. Here, we investigated the effects of nitrogen deposition, precipitation pattern changes, and their interactions on soil microbial communities in a southern subtropical forest. An open-top chamber experiment provided theoretical support for how southern subtropical forests will respond to future climate change. Four experimental treatments were used: control (CK), changes in precipitation pattern (DD), double nitrogen deposition (AN), and the interaction of double nitrogen deposition and changes in precipitation pattern (ANDD). The phospholipid fatty acid (PLFA) method was used to determine soil microbial community structure. The results showed that AN treatment significantly affected the phospholipid fatty acids (PLFAs) of the whole community and each microbial group, with PLFAs increasing in the dry season and decreasing in the wet season. In comparison, DD treatment had no significant effect on the PLFAs. ANDD treatment increased the PLFAs of the whole community, fungi, and gram-positive bacteria in the dry season and decreased the total and fungal PLFAs in the wet season. None of the treatments significantly affected soil fungi/bacteria (F/B), gram-positive or gram-negative bacteria (G^+/G^-), or microbial community

收稿日期 Received: 2022-07-11 接受日期 Accepted: 2022-09-15

广东省重点领域研发计划项目 (2020B1111530004)、国家自然科学基金项目 (32101342, 41977287)、中国博士后科学基金 (2021M693220, 2022T150656)、中国科学院特别研究助理基金项目 (2021000065) 和广东省财政专项林业项目联合资助 Supported by the Key R&D Program of Guangdong Province (2020B1111530004), National Natural Science Foundation of China (32101342, 41977287), China Postdoctoral Science Foundation (2021M693220, 2022T150656), Special Research Assistant Funding Project of the Chinese Academy of Sciences (2021000065), and Financial Special Forestry Program of Guangdong Province

✉通信作者 Corresponding author (E-mail: ljxiu@scbg.ac.cn)

structure in either season. Correlation analysis revealed that soil microorganisms were mainly affected by soil pH, water content, and organic carbon in the dry season and by soil ammonium nitrogen and nitrate nitrogen in the wet season. Overall, nitrogen deposition and precipitation pattern changes exhibited antagonistic effects on the amount of microbial PLFAs; however, they did not significantly affect the microbial community structure. Therefore, considering a single factor (e.g., nitrogen deposition) might overestimate the response of soil microorganisms to climate change, and the complementary mechanisms among climate change factors may be important for limiting the response of soil microorganisms.

Keywords microbial community structure; phospholipid fatty acid; nitrogen deposition; precipitation pattern change; forest ecosystem

自工业革命以来,由于人类活动引起的活性氮排放急剧增加,我国已成为世界三大氮沉降区域之一^[1-2]。氮沉降是全球氮循环的重要组成部分,氮沉降的增加会改变陆地生态系统水土化学性质、温室气体平衡和生物多样性^[3-5],进而影响生态系统服务及其稳定性。另一方面,全球变暖的发生加速了全球水循环,导致全球降水格局发生变化^[6-8]。降水格局的变化会改变土壤水分状况,从而影响土壤的养分循环,并最终影响生态系统的碳汇能力和生产力^[9-11]。

土壤微生物是维系陆地生态系统地上-地下相互作用的纽带,也是植物多样性和生产力的重要驱动者,在许多关键生态过程中都发挥着重要作用^[12-13]。研究表明,土壤微生物群落对全球变化响应敏感^[14-15]。氮沉降可以增加土壤氮含量以缓解土壤氮限制,从而促进微生物的生长,但土壤氮的过度积累也可能导致土壤酸化,以此抑制微生物的生长和活性^[16-18]。在南亚热带森林中,有研究发现氮沉降显著降低了土壤微生物生物量,改变了土壤微生物群落结构^[19];但也有研究显示氮沉降对其微生物生长具有促进作用^[20]或无影响^[21]。降水格局变化则能够通过改变土壤水分直接影响土壤微生物群落^[22-24],也能够通过影响植物群落和其他土壤理化性质对土壤微生物产生间接影响^[21]。然而,降水格局变化也可能对微生物群落无明显影响,如Zhao(2017)等发现春季降水减少和夏季降水增加对南亚热带森林土壤微生物生物量和群落结构均无显著影响^[25]。此外,氮沉降和降水格局变化还会对土壤微生物群落产生交互作用,如Zhang等(2014)在对内蒙古草地生态系统的研究中发现,氮沉降和降水量增加对土壤细菌群落产生了拮抗作用^[26],Shi(2018)等在温带森林中却发现氮沉降和降水格局变化对土壤微生物群落表现出明显的协同效应^[27],这些交互作用的存在可能对维持生态系统的稳定具有重要意义。因此,探究氮沉降和降水格局变化及其交互作用对土壤微生物的影响将有助于深入理解生态系统在全球变化下的响应及机理。

南亚热带森林是我国华南地区最重要的森林碳汇基地,相比于氮、水限制的温带森林和草原生态系统,南亚热带森林多处于氮富集状态,且其氮沉降量超过 $35 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ ^[28],远高于我国平均水平($21 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$)^[2]。此外,南亚热带森林有明显的干、湿季之分,且有研究表明,我国华南地区降水格局已经发生改变,表现为干季降雨逐渐减少、湿季降雨逐渐增加,但总降雨量不变^[29]。然而,目前大部分研究仅关注全球变化因子中单一环境变化的影响,对多种环境因子交互作用的影响研究相对较少^[14],尤其是在高氮沉降和降雨量的南亚热带地区,其土壤微生物在氮沉降和降水格局变化的交互影响下如何响应仍未可知。

基于此,我们以南亚热带森林为研究对象,设计对照

(CK)、降水格局变化(DD)、氮沉降增加一倍(AN)和氮沉降增加一倍+降水格局变化交互(ANDD)4种实验处理,运用磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFA)法测定土壤微生物群落结构,以探究南亚热带森林土壤微生物对氮沉降增加和降水格局变化及其交互作用的响应及其影响因素,旨在为全球变化背景下多因子交互对南亚热带森林的影响研究提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究地位于广东省广州市中国科学院华南植物园科研区($23^{\circ}10'46.4''\text{N}$, $113^{\circ}21'9.1''\text{E}$),属亚热带季风气候,年均温 21.5°C ,最热月(7月)和最冷月(1月)平均气温分别为 29.8°C 和 13.9°C ,年均相对湿度为77%,年降水量 $1\ 900 \text{ mm}$,有明显的干、湿季节之分,降水主要集中在4-9月,约占全年降雨量的75%。

1.2 实验设计

1.2.1 实验平台设计 2018年4月,在华南植物园科研区内选择一片开阔且地势平坦的空地,修建氮沉降和降水格局变化交互长期控制实验平台。平台顶部由透光材料进行遮盖处理以隔绝自然降雨和氮沉降,平台内设置自动浇水系统和气象观测设备。采用开顶箱(open-top-chamber, OTC)设计模拟森林生态系统,每个OTC间隔2 m,面积为 $3 \text{ m} \times 3 \text{ m}$,深度为 0.8 m ,四周由砖-水泥砂-混凝土砌造,土壤来自就近山地,土壤为砂质母岩发育形成的赤红壤,土壤有机碳、全氮、全磷含量分别为 3.34 g/kg 、 0.34 g/kg 和 0.15 g/kg ,土壤pH为4.71。于2019年5月选取南亚热带森林中6种常见树种的幼苗栽植于OTC内,分别为降香黄檀(*Dalbergia odorifera*)、海南红豆(*Ormosia pinnata*)、醉含笑(*Michelia macclurei*)、黎朔锥(*Castanopsis fissa*)、马尾松(*Pinus massoniana*)和南方红豆杉(*Taxus chinensis var. mairei*)。

1.2.2 实验处理设计 共设置对照(CK)、降水格局变化(DD)、氮沉降增加一倍(AN)和氮沉降增加一倍+降水格局变化交互(ANDD)4种处理,其中背景氮沉降参照广东省鼎湖山自然保护区,年均氮沉降量约为 $40 \text{ kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ ^[25],自然降雨总降雨量为 $1\ 900 \text{ mm}$,且干、湿季降雨分配比例为1:3,每个处理各设置3个重复,并于2020年7月底开始进行处理。使用硝酸铵(NH_4NO_3)作为氮源模拟氮沉降,每两月进行一次施氮处理,分别将 17.14 g (CK、DD)和 34.29 g (AN、ANDD) NH_4NO_3 溶于2 L水中后均匀喷洒在OTC内;降水格局变化设计为年总降雨量保持不变,将干季(10月至3月)降水减少50%施于湿季(4月至9月)^[29],即干、湿季降雨分配比例为

1:7, 具体处理措施见表1.

1.3 样品采集

于2020年12月和2021年7月分别进行土壤采样. 移除土壤表面凋落物, 用土钻 (直径3.8 cm) 钻取表层0-10 cm的土壤, 每个OTC内随机钻取6钻土, 混合为一份单独样品, 装入自封袋中并编号, 共采集24份土壤样品. 采回的土样过2 mm筛, 去除植物根系和砂石等杂质, 保留部分鲜土用于土壤含水率和铵态氮 (NH₄⁺-N)、硝态氮 (NO₃⁻-N) 测定, 部分冷冻干燥后用于微生物磷脂脂肪酸 (PLFAs) 测定, 剩余土壤风干后用于其他土壤理化性质测定.

1.4 土壤指标测定方法

1.4.1 土壤理化性质测定 土壤含水量 (SWC) 采用烘干法测定, 土壤pH采用电位法 (水:土 = 2.5:1) 测定, 土壤有机碳 (SOC) 采用重铬酸钾氧化法测定, 土壤全氮 (TN) 采用半微量凯氏法测定, 土壤全磷 (TP) 采用钼锑抗比色法测定, 土壤铵态氮 (NH₄⁺-N) 和硝态氮 (NO₃⁻-N) 在氯化钾溶液浸提后, 分别采用靛酚蓝比色法和双波长比色法测定.

1.4.2 土壤微生物磷脂脂肪酸测定 土壤微生物群落结构采用磷脂脂肪酸 (phospholipid fatty acid, PLFA) 法测定^[30-31], 通过对土壤浸提液提取、分离、提纯、萃取出磷脂后, 与甲醇进行酯化反应得到磷脂脂肪酸甲酯, 用气相色谱仪 (Agilent 7890A) 进行测定, 并结合MIDI微生物鉴定系统 (MIDI, Inc., Newark, DK) 进行分析. 参照已有文献对微生物PLFA进行分类, 细菌 (B) 由i14:0、14:0、i15:0、a15:0、i16:0、16:0、16:1ω7c、a17:0、i17:0、cy17:0、17:1ω8c、18:0、18:1ω7和cy19:0ω8c表征, 其中i14:0、i15:0、a15:0、i16:0、a17:0和i17:0表征革兰氏阳性菌 (G⁺), 16:1ω7c、cy17:0、17:1ω8c、

18:1ω7c和cy19:0ω8c表征革兰氏阴性菌 (G⁻); 真菌 (F) 由18:1ω9c、18:2ω6c和18:3ω3c来表征; 丛枝菌根真菌 (AMF) 由16:1ω5c来表征; 放线菌 (A) 由10Me16:0、10Me17:0、10Me18:0来表征^[32-33].

1.5 数据统计与分析

采用SPSS 19.0进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), 最小显著差法 (LSD) 检验不同处理间土壤理化性质和微生物磷脂脂肪酸 (PLFAs) 含量的差异显著性, 双因素方差分析 (two-way ANOVA) 处理和季节对土壤理化性质和微生物群落的影响, Pearson相关系数分析不同季节下土壤理化性质和微生物生物量的相关性; 采用R “vegan” 包进行主成分分析 (PCA), 以分析不同处理间微生物群落结构的差异.

2 结果与分析

2.1 不同处理对土壤理化性质的影响

方差分析结果表明, 不同处理对土壤理化性质有显著影响, 且在季节间存在差异 ($P < 0.05$, 表2). 在干季, 相比于CK处理, DD处理显著降低了土壤SWC, 提高了土壤SOC和C/N ($P < 0.05$); AN处理则显著提高了土壤pH和SOC含量 ($P < 0.05$); ANDD处理仅显著增加了土壤SOC含量 ($P < 0.05$). 但在湿季, DD、AN和ANDD处理对土壤理化性质均无显著影响 ($P > 0.05$).

2.2 不同处理对土壤微生物PLFAs量的影响

方差分析结果表明, 土壤微生物PLFAs量对不同处理响应显著, 且有明显季节分异 ($P < 0.05$, 图1). 在干季, 土壤微生物总PLFAs量和各微生物类群PLFAs量在不同处理下变化

表1 降水格局变化处理措施

Table 1 Treatments of change in precipitation pattern

处理 Treatment	干季 Dry season	湿季 Wet season
自然降雨 Natural precipitation	隔日浇水. 分12次, 其中6次每次浇水6 L, 剩余6次每次浇水2 L, 共48 L/2 d. Watering every other day (48 L/2 days). Watering is divided into 12 times on the same day, that is, 6 times * 6 L and then 6 times * 2 L.	每日浇水. 分8次, 其中4次浇水14 L, 2次6 L, 1次2 L, 1次1 L, 共71 L/d. Watering every day and divided into 8 times (71 L/day). The watering order is 4 times * 14 L, 2 times * 6 L, 1 time * 2 L and 1 time * 1 L.
降水格局变化 Change in precipitation pattern	每隔3 d浇水. 分12次, 其中6次每次浇水6 L, 剩余6次每次浇水2 L, 共48 L/4 d. Watering every four days (48 L/4 days). Watering is divided into 12 times on the same day, that is, 6 times * 6 L and then 6 times * 2 L.	每日浇水. 分8次, 其中4次浇水16 L, 2次7 L, 1次3 L, 1次2 L, 共83 L/d. Watering every day and divided into 8 times (83 L/day). The watering order is 4 times * 16 L, 2 times * 7 L, 1 time * 3 L and 1 time * 2 L.

表2 不同处理下土壤理化性质的变化

Table 2 Change in soil physiochemical properties under different treatments

季节 Season	处理 Treatment	SWC/%	pH	SOC/g kg ⁻¹	TN/g kg ⁻¹	TP/g kg ⁻¹	NH ₄ ⁺ -N/ mg kg ⁻¹	NO ₃ ⁻ -N/ mg kg ⁻¹	碳氮比 C/N
干季 Dry season	CK	15.89 ± 0.47bc	4.88 ± 0.09a	3.01 ± 0.23a	0.26 ± 0.03ab	0.23 ± 0.01a	2.94 ± 1.01a	2.75 ± 0.73a	11.76 ± 1.47a
	DD	11.35 ± 1.53a	4.84 ± 0.09a	3.60 ± 0.14b	0.21 ± 0.04a	0.23 ± 0.02a	3.04 ± 1.17a	1.48 ± 0.32a	18.14 ± 2.88b
	AN	18.74 ± 0.09c	5.19 ± 0.04b	5.07 ± 0.11c	0.32 ± 0.04b	0.24 ± 0.02a	1.16 ± 0.37a	4.62 ± 1.47a	16.16 ± 1.64ab
	ANDD	13.10 ± 1.49ab	5.11 ± 0.13ab	4.08 ± 0.16b	0.33 ± 0.01b	0.25 ± 0.00a	2.01 ± 0.59a	4.67 ± 1.53a	12.47 ± 0.29ab
湿季 Wet season	CK	18.36 ± 0.70a	5.04 ± 0.11a	3.70 ± 0.33a	0.29 ± 0.02ab	0.31 ± 0.02a	3.78 ± 0.45a	1.49 ± 0.49ab	12.86 ± 0.31ab
	DD	19.62 ± 0.54a	5.03 ± 0.03a	3.64 ± 0.21a	0.21 ± 0.03a	0.25 ± 0.04a	3.44 ± 1.04a	0.86 ± 0.03a	17.33 ± 1.15b
	AN	19.38 ± 0.50a	5.10 ± 0.19a	3.99 ± 0.18a	0.38 ± 0.05b	0.29 ± 0.03a	2.91 ± 0.54a	2.01 ± 0.29ab	10.83 ± 1.07a
	ANDD	19.76 ± 0.49a	5.03 ± 0.13a	3.98 ± 0.36a	0.27 ± 0.03ab	0.33 ± 0.10a	2.41 ± 0.24a	2.38 ± 0.52b	15.14 ± 2.15ab
P	T	0.006	0.237	0.001	0.006	0.689	0.212	0.045	0.020
	S	< 0.001	0.557	0.501	0.751	0.072	0.129	0.012	0.604
	T × S	0.001	0.422	0.012	0.395	0.876	0.785	0.629	0.111

不同字母表示相同季节下不同处理间差异显著 ($P < 0.05$). CK: 对照; DD: 降水格局变化; AN: 氮沉降增加一倍; ANDD: 氮沉降增加一倍+降水格局变化交互. T: 处理; S: 季节; T × S: 处理与季节的交互作用. SWC: 含水量; SOC: 土壤有机碳; TN: 全氮; TP: 全磷.

Different letters indicate statistical significance among the treatments in the same season ($P < 0.05$). CK: Control; DD: Change in precipitation pattern; AN: Double nitrogen deposition; ANDD: Interaction of double nitrogen deposition and change in precipitation pattern. T: Treatment; S: Season; T × S: Treatment × season. SWC: Soil water content; SOC: Soil organic carbon; TN: Total nitrogen; TP: Total phosphorus.

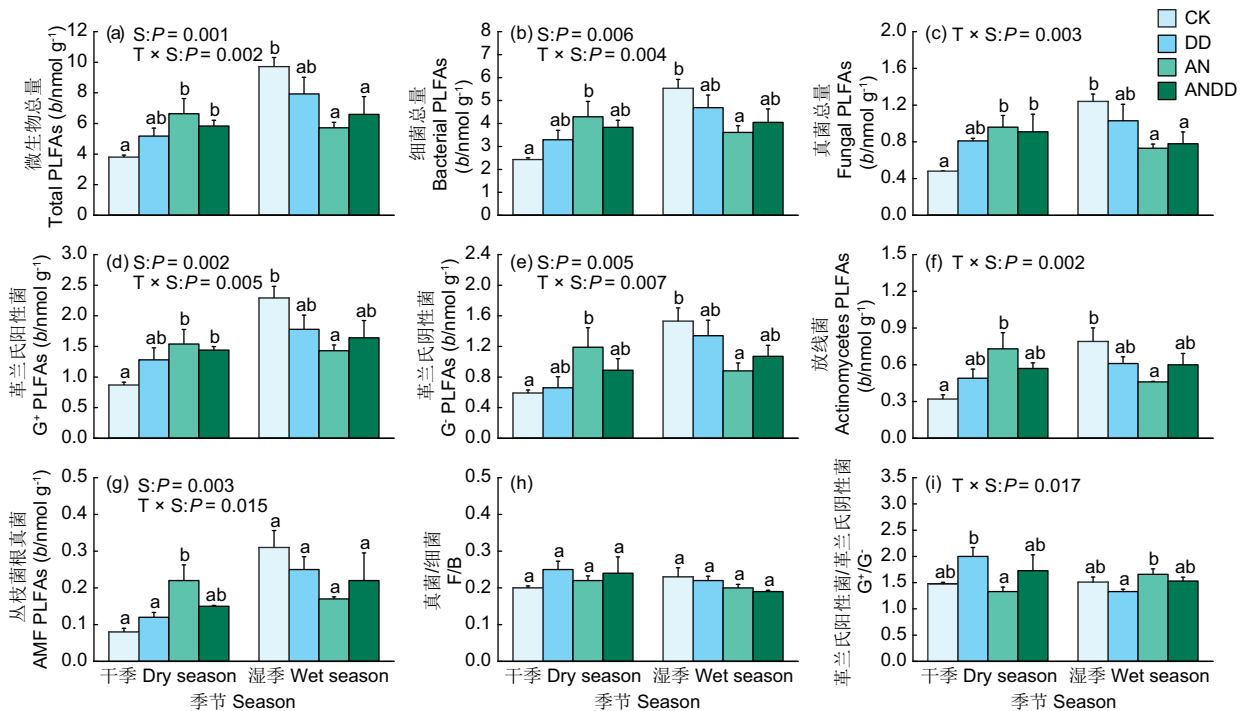


图1 不同处理下土壤微生物PLFAs含量的变化。不同字母表示相同季节下不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。CK: 对照; DD: 降水格局变化; AN: 氮沉降增加一倍; ANDD: 氮沉降增加一倍+降水格局变化交互。T: 处理; S: 季节; T × S: 处理与季节的交互作用。

Fig. 1 Change in soil microbial PLFAs under different treatments. Different letters indicate statistical significance among the treatment in the same season ($P < 0.05$). CK: Control; DD: Change in precipitation pattern; AN: Double nitrogen deposition; ANDD: Interaction of double nitrogen deposition and change in precipitation pattern. T: Treatment; S: Season; T × S: Treatment × season; ns: No significant difference.

趋势均表现为AN > ANDD > DD > CK, 且AN与CK处理间差异显著 ($P < 0.05$); 而ANDD处理下仅微生物总PLFAs量、真菌和革兰氏阳性菌PLFAs量显著高于CK处理 ($P < 0.05$), 分别增加了53.42%、89.58%和65.52%; DD处理则与CK处理间无显著差异 ($P > 0.05$)。在湿季, 土壤微生物PLFAs量对不同处理的响应与干季相反, 其微生物总PLFAs量和各类群微生物PLFAs量变化趋势表现为CK > DD > ANDD > AN, 其中AN与CK处理间同样存在着显著差异 ($P < 0.05$), ANDD处理下仅微生物总PLFAs量和真菌PLFAs量显著低于CK处理 ($P < 0.05$), 分别降低了32.03%和37.10%, 且DD与CK处理间也无显著差异 ($P > 0.05$)。由此可见, ANDD处理下移除了土壤微生物PLFAs量对AN处理的显著响应, AN和DD处理间存在着明显的交互作用。

此外, 无论干季或湿季, DD、AN与ANDD处理下土壤F/B和G⁺/G⁻均与CK处理间无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.3 不同处理对土壤微生物群落结构的影响

主成分分析(图2)表明, 前2个主成分解释了土壤微生物群落结构变异的59.76%, 其中第一主成分贡献率为34.34%, 第二主成分贡献率为25.42%, 且第一主成分与细菌和丛枝菌根真菌相关性较强, 第二主成分则与真菌和革兰氏阴性菌相关性较强。在干季, DD和CK处理下微生物群落沿第二主成分轴分别分布在第二和第三象限; 而在湿季, 不同处理下微生物群落结构均无明显差异。

2.4 土壤微生物与土壤环境因子的关系

Pearson相关性分析(表3)表明, 不同季节下影响土壤微生物群落的因素也不同。在干季, 土壤SOC与微生物总PLFAs量和各类群微生物PLFAs量呈显著正相关, 土壤pH与革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、放线菌和丛枝菌根真菌PLFAs

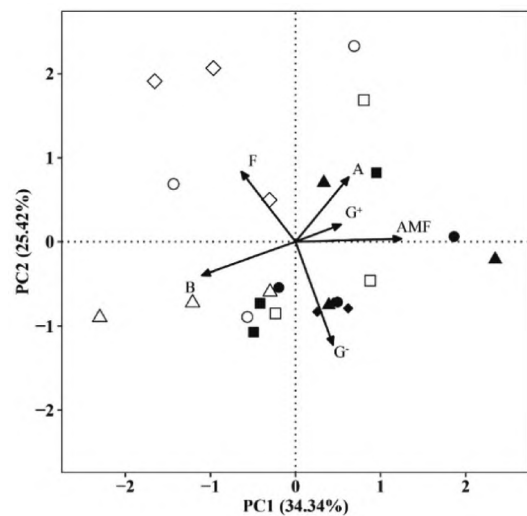


图2 不同处理下土壤微生物群落结构主成分分析。△: 对照(CK); ◇: 降水格局变化(DD); □: 氮沉降增加一倍(AN); ○: 氮沉降增加一倍+降水格局变化交互(ANDD); 空心图例表示干季, 实心图例表示湿季。B: 细菌; G⁺: 革兰氏阳性菌; G⁻: 革兰氏阴性菌; F: 真菌; A: 放线菌; AMF: 丛枝菌根真菌。

Fig. 2 Principal component analysis of soil microbial community structure under different treatments. △: Control (CK); ◇: Change in precipitation pattern (DD); □: Double nitrogen deposition (AN); ○: Interaction of double nitrogen deposition and change in precipitation pattern (ANDD); open and solid legends indicate the dry season and wet season, respectively. B: Bacteria; G⁺: Gram-positive bacteria; G⁻: Gram-negative bacteria; F: Fungi; A: Actinomycetes; AMF: Arbuscular mycorrhizal fungi.

量呈显著正相关, 土壤SWC则与G⁺/G⁻呈显著负相关 ($P < 0.05$); 在湿季, 土壤NH₄⁺-N含量与微生物总PLFAs量、细菌、革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和真菌PLFAs量呈显著正相

表3 土壤微生物PLFAs量与土壤理化性质相关性分析

Table 3 Correlation between soil microbial PLFAs and soil physicochemical properties

季节 Season	微生物类型 Type of microorganism	SWC	pH	SOC	TN	TP	NH ₄ ⁺ -N	NO ₃ ⁻ -N	C/N
干季 Dry season	微生物总量 Total PLFAs	0.181	0.521	0.669*	0.153	0.148	-0.396	0.143	0.352
	细菌 Bacteria PLFAs	0.200	0.559	0.624*	0.126	0.092	-0.394	0.232	0.334
	革兰氏阳性菌 G ⁺ PLFAs	0.081	0.589*	0.580*	0.019	0.086	-0.484	0.178	0.439
	革兰氏阴性菌 G ⁻ PLFAs	0.431	0.577*	0.577*	0.129	0.031	-0.385	0.301	0.254
	真菌 Fungi PLFAs	-0.044	0.181	0.614*	0.237	0.250	-0.216	-0.081	0.282
	放线菌 Actinomycetes PLFAs	0.229	0.693*	0.748**	0.220	0.237	-0.543	0.153	0.348
	丛枝菌根真菌 AMF PLFAs	0.330	0.591*	0.799**	0.260	0.202	-0.487	0.154	0.327
	真菌/细菌 F/B	-0.367	-0.436	0.213	0.179	0.302	0.178	-0.431	0.103
	革兰氏阳性/阴性菌 G ⁺ /G ⁻	-0.644*	-0.297	-0.202	-0.289	0.178	-0.005	-0.404	0.299
湿季 Wet season	微生物总量 Total PLFAs	-0.335	-0.017	-0.085	-0.390	-0.275	0.705*	-0.169	0.389
	细菌 Bacteria PLFAs	-0.352	-0.030	-0.019	-0.379	-0.232	0.721**	-0.119	0.406
	革兰氏阳性菌 G ⁺ PLFAs	-0.430	0.068	0.103	-0.283	-0.203	0.631*	0.041	0.344
	革兰氏阴性菌 G ⁻ PLFAs	-0.304	-0.047	-0.089	-0.411	-0.206	0.755**	-0.234	0.429
	真菌 Fungi PLFAs	-0.211	-0.085	-0.291	-0.414	-0.326	0.750**	-0.360	0.350
	放线菌 Actinomycetes PLFAs	-0.486	0.250	0.259	-0.243	-0.154	0.439	0.190	0.347
	丛枝菌根真菌 AMF PLFAs	-0.385	0.298	0.306	-0.266	-0.345	0.497	0.214	0.427
	真菌/细菌 F/B	0.061	-0.033	-0.507	-0.207	-0.373	0.380	-0.526	0.049
	革兰氏阳性/阴性菌 G ⁺ /G ⁻	-0.173	0.398	0.381	0.472	0.021	-0.448	0.660*	-0.383

表示相关性显著 ($P < 0.05$)。 indicates significant correlation ($P < 0.05$).

关,土壤NO₃⁻-N含量则与G⁺/G⁻呈显著正相关 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 氮沉降对土壤微生物群落的影响

目前研究表明,氮沉降对土壤微生物的影响具有不确定性。一方面,氮沉降引起的土壤酸化会对土壤微生物产生负面影响,降低土壤微生物总生物量以及细菌、真菌生物量^[18, 34-35];另一方面,氮沉降也可增加土壤氮素含量,促进植物生长,增加植物对土壤的碳输入(凋落物和根系),为微生物的生长和繁殖提供充足的底物^[36],从而促进微生物的生长。例如倪壮(2018)等在鼎湖山亚热带森林的研究中发现,施氮显著增加了干季和湿季土壤微生物PLFAs量^[20],本研究结果却显示,AN处理虽显著增加了干季土壤微生物总PLFAs量和各微生物类群PLFAs量,但降低了湿季土壤微生物PLFAs量。本研究中AN处理虽对干季土壤TN、NH₄⁺-N和NO₃⁻-N含量均无显著影响,但显著增加了干季土壤SOC含量,且干季土壤SOC含量与微生物总PLFAs量和各微生物类群PLFAs量显著正相关,因此,氮沉降导致的植物对土壤碳输入的增加可能是干季微生物PLFAs量增加的主要原因。另外,本研究中AN处理下湿季土壤微生物PLFAs量虽显著低于CK处理,但土壤pH并未发生显著变化,说明土壤酸化并非本研究湿季土壤微生物PLFAs量降低的原因。本文湿季土壤微生物PLFAs量的降低可能与土壤和微生物间氮素的周转有关,相关性分析也发现湿季土壤NH₄⁺-N与微生物PLFAs量显著相关(表3),但其具体原因还需要进一步研究。

相比于真菌,细菌更倾向于利用碳氮比低的底物^[37];另外,由于细胞结构的差异,革兰氏阳性菌要比革兰氏阴性菌更能适应环境胁迫^[19]。因此,氮沉降增加引起的土壤C/N降低以及土壤酸化问题可能导致土壤F/B降低和G⁺/G⁻的升高,从而改变土壤微生物群落结构^[17, 35, 38]。但本研究结果显示,无论干季或是湿季,AN处理对土壤F/B和G⁺/G⁻均无显著影响,微生物群落结构未发生改变,主要是因为本研究中AN处理下土壤pH和C/N并未发生显著变化,这可能是受到氮添加水平和

持续时间的影响,即短期氮沉降和低施氮量可能不会对微生物产生显著影响^[35],但Wang(2018)等在南亚热带森林研究中发现长期氮沉降处理对土壤微生物F/B也无显著影响^[19]。因此,为深入理解氮沉降下南亚热带森林土壤微生物群落结构的变化,未来还需进行长期的监测研究。

3.2 降水格局变化对土壤微生物的影响

已有研究表明,在水分限制的草地和温带森林,降水减少会限制土壤基质扩散,加剧水分生理压力,从而抑制土壤微生物生长,降水增加则能够缓解水分限制^[34, 39];而在降雨量大、水分充足的亚热带森林,降水减少能够改善土壤通气性,从而促进微生物活动^[40],但降水增加却会加剧土壤养分的淋溶^[41],进而抑制微生物生长。本研究结果显示,无论是干季还是湿季,DD处理对土壤微生物总PLFAs量和各微生物类群PLFAs量均无显著影响,这与前人研究不符^[34, 39, 41]。Zhao(2018)等在广东鹤山亚热带森林的研究中也发现,干季降水减少和湿季降水增加均未对微生物生物量产生显著影响^[42]。有研究认为,微生物生物量对土壤水分变化的响应取决于是否超出土壤特定阈值^[43-44],未达到阈值的土壤湿度变化不会显著影响土壤微生物群落,这可能是本研究中DD处理下微生物PLFAs量无显著响应的原因之一。

主成分分析显示,本研究中DD和CK处理下干季微生物群落虽分布在不同的象限,但DD处理对干季土壤F/B和G⁺/G⁻却无显著影响,说明DD处理下微生物群落结构并未发生显著改变。Zhao(2017)等在南亚热带森林的降水变化研究中也得到一致结论^[25],但在增加降雨频次时却显著降低了湿季F/B,原因是频繁的降雨导致了土壤氧限制,抑制了真菌的生长^[42]。然而,也有研究发现降雨频次的增加并未影响湿季土壤F/B^[40]。因此,降雨频次的变化也将是未来研究需要考虑的问题。此外,历史气候状况能够使微生物对土壤水分的响应产生区域性适应^[45];与其他生态系统相比,降雨量大或季节性强的生态系统受降水变化的影响较小^[22]。所以,相比于水分限制温带森林和半干旱草原,地处季风气候区的亚热带森林在长期的气候适应下,可能限制了土壤微生物对降水格局变化的响应,从而导致降水格局变化对土壤微生物群落影响不显著。

3.3 氮沉降和降水格局变化对土壤微生物的交互影响

有研究表明,氮沉降和降水格局变化对土壤微生物的影响存在着明显的交互作用,其中降水起主要调控作用,即降水格局变化驱动着土壤微生物群落对氮沉降的响应^[15,46-47]。在本研究中,DD处理对微生物PLFAs量无显著影响,AN处理则显著影响着微生物总PLFAs量和各微生物类群PLFAs量,而ANDD处理下除真菌外各微生物类群PLFAs量与CK处理间均无显著差异,说明降水格局变化削弱了氮沉降对微生物的影响,即氮沉降和降水格局变化间存在着明显的拮抗作用,这与多数交互作用相关研究结果一致^[26,34,46]。这种拮抗作用可能主要通过改变土壤SWC和pH来影响土壤微生物群落(表2),例如Zhang(2014)等发现在中国北方草原,氮沉降和降水增加对土壤pH具有相反作用,从而对土壤细菌群落产生拮抗效应^[26]。氮沉降和降水格局变化间拮抗作用的存在,可能有助于维持土壤微生物群落和生态系统的稳定。然而,在温带森林生态系统中,有研究却发现降水增加显著提高了土壤中Al³⁺、Fe³⁺的浓度,加剧了氮沉降对微生物的负面影响,二者表现出明显的协同效应^[27]。因此,氮沉降和降水格局变化的交互作用可能与生态系统类型有关。此外,土壤微生物生物量对全球变化单一因素的响应可能要比多因子交互更敏感^[44],各因子之间可能存在着互补机制,这也是未来需要深入研究的重要内容之一。

尽管如此,本研究却未发现氮沉降和降水格局变化对土

壤微生物群落结构交互作用的存在,这可能是由于AN和DD处理均未对微生物群落结构产生显著影响导致的。但在温带森林和草原中,均发现氮沉降和降水格局变化交互显著改变了土壤微生物群落结构^[26-27],且有研究认为,只有在土壤水分充足时,氮沉降才会对微生物产生显著影响^[15],这也在一定程度上验证了降水调控二者交互作用的假说。所以,土壤水分变化阈值的存在^[43-44]以及长期的气候适应^[46]可能是本研究中ANDD处理下对土壤微生物群落结构无明显影响的重要原因。

4 结论

在高氮沉降和降雨量的南亚热带森林中,氮沉降增加一倍(AN)处理显著提高了干季土壤微生物PLFAs量,降低了湿季微生物PLFAs量,但对微生物群落结构无显著影响;降水格局变化(DD)处理对土壤微生物PLFAs量和微生物群落结构均无显著影响;氮沉降增加一倍+降水格局变化交互(ANDD)处理下氮沉降和降水格局变化对微生物PLFAs量表现出明显的拮抗作用,但对微生物群落结构无显著影响。因此,仅考虑氮沉降单一因素影响可能会高估土壤微生物生物量对全球变化的响应,而全球变化因子间的互补机制可能是限制土壤微生物对全球变化响应的重要因素。此外,未来相关研究中还需要考虑季节以及氮添加水平和持续时间对微生物的差异影响。

参考文献 [References]

- Galloway JN, Townsend AR, Erismann JW, Bekunda M, Cai ZC, Freney JR, Martinelli LA, Seitzinger SP, Sutton MA. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions [J]. *Science*, 2008, **320** (5878): 889-892
- Liu XJ, Zhang Y, Han WX, Tang AH, Shen JL, Cui ZL, Vitousek P, Erismann JW, Goulding K, Christie P, Fangmeier A, Zhang FS. Enhanced nitrogen deposition over China [J]. *Nature*, 2013, **494** (7438): 459-462
- Clark CM, Tilman D. Loss of plant species after chronic low-level nitrogen deposition to prairie grasslands [J]. *Nature*, 2008, **451** (7179): 712-715
- Matson P, Lohse KA, Hall SJ. The globalization of nitrogen deposition: consequences for terrestrial ecosystems [J]. *Ambio*, 2002, **31** (2): 113-119
- Vitousek PM, Aber JD, Howarth RW, Likens GE, Matson PA, Schindler DW, Schlesinger WH, Tilman D. Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences [J]. *Ecol Appl*, 1997, **7** (3): 737-750
- Fischer EM, Knutti R. Anthropogenic contribution to global occurrence of heavy-precipitation and high-temperature extremes [J]. *Nat Clim Change*, 2015, **5** (6): 560-564
- Huntington TG. Evidence for intensification of the global water cycle: review and synthesis [J]. *J Hydrol*, 2006, **319** (1-4): 83-95
- Knapp AK, Ciais P, Smith MD. Reconciling inconsistencies in precipitation-productivity relationships: implications for climate change [J]. *New Phytol*, 2017, **214** (1): 41-47
- Anderegg WRL, Schwalm C, Biondi F, Camarero JJ, Koch G, Litvak M, Ogle K, Shaw JD, Shevliakova E, Williams AP, Wolf A, Ziaco E, Pacala S. Pervasive drought legacies in forest ecosystems and their implications for carbon cycle models [J]. *Science*, 2015, **349** (6247): 528-532
- Schlesinger WH, Dietze MC, Jackson RB, Phillips RP, Rhoades CC, Rustad LE, Vose JM. Forest biogeochemistry in response to drought [J]. *Glob Chang Biol*, 2016, **22** (7): 2318-2328
- 周贵尧, 周灵燕, 邵钧炯, 周旭辉. 极端干旱对陆地生态系统的影响: 进展与展望[J]. *植物生态学报*, 2020, **44** (5): 515-525 [Zhou GY, Zhou LY, Shao JJ, Zhou XH. Effects of extreme drought on terrestrial ecosystems: reviews and prospects [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2020, **44** (5): 515-525]
- Van Der Heijden MGA, Bardgett RD, Van Straalen NM. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems [J]. *Ecol Lett*, 2008, **11** (3): 296-310
- 朱永官, 沈仁芳, 贺纪正, 王艳芬, 韩兴国, 贾仲君. 中国土壤微生物组: 进展与展望[J]. *中国科学院院刊*, 2017, **32** (6): 554-565 [Zhu YG, Shen RF, He JZ, Wang YF, Han XG, Jia ZJ. China soil microbiome initiative: progress and perspective [J]. *Bull Chin Acad Sci*, 2017, **32** (6): 554-565]
- Thakur MP, Del Real IM, Cesarz S, Steinauer K, Reich PB, Hobbie S, Ciobanu M, Rich R, Worm K, Eisenhauer N. Soil microbial, nematode, and enzymatic responses to elevated CO₂ N fertilization, warming, and reduced precipitation [J]. *Soil Biol Biochem*, 2019, **135**: 184-193
- Zhang NL, Wan SQ, Guo JX, Han GD, Gutknecht J, Schmid B, Yu L, Liu WX, Bi J, Wang Z, Ma KP. Precipitation modifies the effects of warming and nitrogen addition on soil microbial communities in northern Chinese grasslands [J]. *Soil Biol Biochem*, 2015, **89**: 12-23
- Averill C, Waring B. Nitrogen limitation of decomposition and decay: how can it occur? [J]. *Glob Chang Biol*, 2018, **24** (4): 1417-1427
- Sha MH, Xu J, Zheng ZC, Fa KY. Enhanced atmospheric nitrogen deposition triggered little change in soil microbial diversity and structure in a desert ecosystem [J]. *Glob Ecol Conserv*, 2021, **31**:

- e01879
- 18 Treseder KK. Nitrogen additions and microbial biomass: a meta-analysis of ecosystem studies [J]. *Ecol Lett*, 2008, **11** (10): 1111-1120
- 19 Wang C, Lu XK, Mori T, Mao QG, Zhou KJ, Zhou GY, Nie YX, Mo JM. Responses of soil microbial community to continuous experimental nitrogen additions for 13 years in a nitrogen-rich tropical forest [J]. *Soil Biol Biochem*, 2018, **121**: 103-112
- 20 倪壮, 聂彦霞, 欧阳胜男, 申卫军. 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[J]. 生态学杂志, 2018, **37**(11): 3202-3209 [Ni Z, Nie YX, Ouyang SN, Shen WJ. Effect of nitrogen addition on soil microbial community structure in a subtropical evergreen broadleaved forest [J]. *Chin J Ecol*, 2018, **37** (11): 3202-3209]
- 21 鲁显楷, 莫江明, 张炜, 毛庆功, 刘荣臻, 王聪, 王森浩, 郑棉海, Taiki M, 毛晋花, 张勇群, 王玉芳, 黄娟. 模拟大气氮沉降对中国森林生态系统影响的研究进展[J]. 热带亚热带植物学报[J]. 2019, **27** (5): 500-522 [Lu XK, Mo JM, Zhang W, Mao QG, Liu RZ, Wang C, Wang SH, Zheng MH, Taiki M, Mao JH, Zhang YQ, Wang YF, Huang J. Effect of simulated atmospheric nitrogen deposition on forest ecosystems in China: an overview [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2019, **27** (5): 500-522]
- 22 Ren CJ, Zhao FZ, Shi Z, Chen J, Han XH, Yang GH, Feng YZ, Ren GX. Differential responses of soil microbial biomass and carbon-degrading enzyme activities to altered precipitation [J]. *Soil Biol Biochem*, 2017, **115**: 1-10
- 23 Zhao Q, Shen WJ, Chen Q, Helmsaari HS, Sun QQ, Jian SG. Spring drying and intensified summer rainfall affected soil microbial community composition but not enzyme activity in a subtropical forest [J]. *Appl Soil Ecol*, 2018, **130**: 219-225
- 24 Yang XC, Zhu K, Loik ME, Sun W. Differential responses of soil bacteria and fungi to altered precipitation in a meadow steppe [J]. *Geoderma*, 2021, **384**: 114812
- 25 Zhao Q, Jian SG, Nunan N, Maestre FT, Tedersoo L, He JH, Wei H, Tan XP, Shen WJ. Altered precipitation seasonality impacts the dominant fungal but rare bacterial taxa in subtropical forest soils [J]. *Biol Fertil Soils*, 2017, **53** (2): 231-245
- 26 Zhang XM, Wei HW, Chen QS, Han XG. The counteractive effects of nitrogen addition and watering on soil bacterial communities in a steppe ecosystem [J]. *Soil Biol Biochem*, 2014, **72**: 26-34
- 27 Shi LL, Zhang HZ, Liu T, Mao P, Zhang WX, Shao YH, Fu SL. An increase in precipitation exacerbates negative effects of nitrogen deposition on soil cations and soil microbial communities in a temperate forest [J]. *Environ Pollut*, 2018, **235**: 293-301
- 28 Zhu JX, He NP, Wang QF, Yuan GF, Wen D, Yu GR, Jia YL. The composition, spatial patterns, and influencing factors of atmospheric wet nitrogen deposition in Chinese terrestrial ecosystems [J]. *Sci Total Environ*, 2015, **511**: 777-785
- 29 Zhou GY, Wei XH, Wu YP, Liu SG, Huang YH, Yan JH, Zhang DQ, Zhang QM, Liu JX, Meng Z, Wang CL, Chu GW, Liu SZ, Tang XL, Liu XD. Quantifying the hydrological responses to climate change in an intact forested small watershed in southern China [J]. *Glob Chang Biol*, 2011, **17** (12): 3736-3746
- 30 Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification [J]. *Can J Biochem Physiol*, 1959, **37** (8): 911-917
- 31 Bossio DA, Scow KM. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns [J]. *Microb Ecol*, 1998, **35** (3): 265-278
- 32 Jiang YJ, Sun B, Jin C, Wang F. Soil aggregate stratification of nematodes and microbial communities affects the metabolic quotient in an acid soil [J]. *Soil Biol Biochem*, 2013, **60**: 1-9
- 33 Schindlbacher A, Rodler A, Kuffner M, Kitzler B, Sessitsch A, Zechmeister-Boltenstern S. Experimental warming effects on the microbial community of a temperate mountain forest soil [J]. *Soil Biol Biochem*, 2011, **43** (7): 1417-1425
- 34 Wang RZ, Dorodnikov M, Dijkstra FA, Yang S, Xu ZW, Li H, Jiang Y. Sensitivities to nitrogen and water addition vary among microbial groups within soil aggregates in a semiarid grassland [J]. *Biol Fertil Soils*, 2017, **53** (1): 129-140
- 35 Zhang TA, Chen HYH, Ruan HH. Global negative effects of nitrogen deposition on soil microbes [J]. *ISME J*, 2018, **12** (7): 1817-1825
- 36 Wu JP, Liu WF, Fan HB, Huang GM, Wan SZ, Yuan YH, Ji CF. Asynchronous responses of soil microbial community and understory plant community to simulated nitrogen deposition in a subtropical forest [J]. *Ecol Evol*, 2013, **3** (11): 3895-3905
- 37 Zhou ZH, Wang CK, Zheng MH, Jiang LF, Luo YQ. Patterns and mechanisms of responses by soil microbial communities to nitrogen addition [J]. *Soil Biol Biochem*, 2017, **115**: 433-441
- 38 Niu GX, Hasi M, Wang RZ, Wang YL, Geng QQ, Hu SY, Xu XH, Yang JJ, Wang CH, Han XG, Huang JH. Soil microbial community responses to long-term nitrogen addition at different soil depths in a typical steppe [J]. *Appl Soil Ecol*, 2021, **167**: 104054
- 39 Yan GY, Xing YJ, Lu XT, Xu LJ, Zhang JH, Dai GH, Luo W, Liu GC, Dong XD, Wang QG. Effects of artificial nitrogen addition and reduction in precipitation on soil CO₂ and CH₄ effluxes and composition of the microbial biomass in a temperate forest [J]. *Eur J Soil Sci*, 2019, **70** (6): 1197-1211
- 40 吴华清, 陈小梅, 林媚珍, 张静, 褚国伟, 邓琦. 降水处理对南亚热带季风林土壤微生物群落结构的影响[J]. 生态环境学报, 2016, **25** (4): 583-590 [Wu HQ, Chen XM, Lin MZ, Zhang J, Chu GW, Deng Q. Effects of the soil microbial community structure to changes in precipitation in the south subtropical monsoon forest [J]. *Ecol Environ Sci*, 2016, **25** (4): 583-590]
- 41 Bouskill NJ, Lim HC, Borglin S, Salve R, Wood TE, Silver WL, Brodie EL. Pre-exposure to drought increases the resistance of tropical forest soil bacterial communities to extended drought [J]. *ISME J*, 2013, **7** (2): 384-394
- 42 Zhao Q, Shen WJ, Chen Q, Helmsaari HS, Sun QQ, Jian SG. Spring drying and intensified summer rainfall affected soil microbial community composition but not enzyme activity in a subtropical forest [J]. *Appl Soil Ecol*, 2018, **130**: 219-225
- 43 Fang X, Zhou GY, Li YL, Liu SZ, Chu GW, Xu ZH, Liu JX. Warming effects on biomass and composition of microbial communities and enzyme activities within soil aggregates in subtropical forest [J]. *Biol Fertil Soils*, 2016, **52** (3): 353-365
- 44 Shihan A, Hattenschwiler S, Milcu A, Joly FX, Santonja M, Fromin N. Changes in soil microbial substrate utilization in response to altered litter diversity and precipitation in a Mediterranean shrubland [J]. *Biol Fertil Soils*, 2017, **53** (2): 171-185
- 45 Averill C, Waring BG, Hawkes CV. Historical precipitation predictably alters the shape and magnitude of microbial functional response to soil moisture [J]. *Glob Chang Biol*, 2016, **22** (5): 1957-1964
- 46 Bi J, Zhang NL, Liang Y, Yang HJ, Ma KP. Interactive effects of water and nitrogen addition on soil microbial communities in a semiarid steppe [J]. *J Plant Ecol*, 2012, **5** (3): 320-329
- 47 Zhang HF, Liu HM, Zhao JN, Wang LL, Li G, Huangfu CH, Wang H, Lai X, Li J, Yang DL. Elevated precipitation modifies the relationship between plant diversity and soil bacterial diversity under nitrogen deposition in *Stipa baicalensis* steppe [J]. *Appl Soil Ecol*, 2017, **119**: 345-353