

模拟大气氮沉降对温带森林土壤微生物群落结构的影响

许 可 王春梅* 张 艺 杨欣桐 刘卫敏

(北京林业大学环境科学与工程学院, 北京 100083)

摘 要 本研究以温带森林土壤为研究对象, 设置野外模拟氮沉降实验, 分析不同施氮形态和施氮水平对微生物群落结构的影响。试验设置对照 (Control, $0 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)、混合态低氮 (NH_4NO_3 , $50 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)、混合态高氮 (NH_4NO_3 , $150 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)、铵态氮低氮 ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $50 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)、铵态氮高氮 ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $150 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)、硝态氮低氮 (NaNO_3 , $50 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$)、硝态氮高氮 (NaNO_3 , $150 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$) 7 种氮处理, 持续施氮 3 年后, 运用磷脂脂肪酸 (PLFA) 法对土壤微生物群落结构进行测定。结果表明: 在不同水平的氮添加下, 土壤微生物总量、细菌、土壤革兰阳性细菌 (G^+ 细菌)、土壤革兰阴性细菌 (G^- 细菌) 和真菌的 PLFA 含量均随施氮水平的增加而升高; 在不同形态的氮添加下, 混合态氮添加提高了微生物总量、细菌、真菌和放线菌的 PLFA 含量。主成分分析 (PCA) 表明, 除铵态氮低氮添加样地外, 其他氮添加处理样地中的土壤微生物结构都发生了改变。这些结果表明, 模拟大气氮沉降初期, 氮添加会增加温带森林土壤微生物生物量, 达到一定水平后会改变土壤微生物群落结构。

关键词 氮添加; 温带森林土壤; 磷脂脂肪酸; 微生物群落结构

Effect of simulated atmospheric nitrogen deposition on soil microbial community structure in a temperate forest. XU Ke, WANG Chun-mei*, ZHANG Yi, YANG Xin-tong, LIU Wei-min (College of Environmental Science & Engineering, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China).

Abstract: Atmospheric nitrogen (N) deposition is a serious threat to global ecosystems. Soil microbes are sensitive to environmental changes. Investigating the effects of N deposition on soil microbial community structure may provide theoretical basis for scientific management of forest ecosystems. A manipulative field experiment was conducted to investigate the effects of different forms (NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaNO_3) and different levels (0 , 50 , $150 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$) of N addition on the microbial community structure in a temperate forest soil. Soil microbial community structure was measured using the method of phospholipid fatty acid analysis (PLFA) after three consecutive years of N addition treatments. Our results showed that the amounts of total PLFA, bacterial PLFA, G^+ bacterial PLFA, G^- bacterial PLFA and fungal PLFA in N addition plots were significantly higher than that in control plots, and N addition increased the amount of microbial PLFA significantly in the order of high N addition > low N addition > control. The amounts of total PLFA, bacterial PLFA, fungal PLFA and actinomycetes PLFA in NH_4NO_3 -N addition plots were generally higher than that in NaNO_3 -N addition and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -N addition plots at the same N addition level. Principal component analysis (PCA) showed that microbial community structures were changed in all N-added plots except the low $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -N addition plots. Overall, these results suggested that N addition would increase soil microbial biomass and change soil microbial community structure in forest soils when N addition level reaches a thresh-

old, at least over the short term.

Key words: nitrogen addition; temperate forest soil; phospholipid fatty acids; soil microbial community structure.

由于工业进程发展和人类活动变化,化石燃料和化肥大量使用,导致大气氮沉降量增加(Fang *et al.*, 2011)。氮沉降不仅影响森林土壤可利用氮素状况,而且影响森林土壤生化过程,从而对森林生态系统物质循环产生影响(Bobbink *et al.*, 2010)。氮沉降使土壤可利用氮素增加,会直接或间接地影响土壤微生物群落结构(吕超群等, 2007)。

氮添加水平的提高会通过影响土壤碳氮比,进而影响土壤微生物活性,间接改变了土壤微生物特性(王楠等, 2014)。Álvaro-Fuentes 等(2013)研究发现,土壤微生物生物量易受施氮水平的影响。Song 等(2013)研究发现,短期氮添加可通过影响植被进而影响土壤微生物的生化特性。一些研究表明,氮添加能降低森林土壤微生物生物量(Treseder, 2008),使真菌生物量下降,细菌生物量上升,革兰氏阳性细菌/革兰氏阴性菌增加等(Treseder, 2008; Zechmeister-Boltenstern *et al.*, 2011)。也有研究发现,氮添加对微生物群落结构未造成显著影响(Griepentrog *et al.*, 2013)。由于控制实验发生的地理位置、气候和土壤性质等因素存在差异,土壤微生物群落结构对氮添加的响应存在很大的不确定性,可能受植被吸收、微生物活动及氮添加时间长短等诸多因素影响。

土壤微生物是土壤物质转化和能量流动过程的重要参与者,几乎参与了所有的土壤生物化学过程(Artursson *et al.*, 2006)。而土壤微生物群落结构是土壤微生物群落状态与功能的指标,反映了土壤中微生物的生态特征(李阜棣, 1993; Insam *et al.*, 1996)。土壤微生物对环境变化十分敏感,当环境和生态机制变化时,微生物的群落结构也时常发生变化(周丹燕等, 2015)。

微生物群落结构的研究方法包括磷脂脂肪酸法、氯仿熏蒸法、稀释平板法、基于 PCR 的核酸分析等。土壤微生物群落的生物量和结构可以由土壤中

微生物磷脂脂肪酸(PLFA)的组成表示(Bardgett *et al.*, 1996)。微生物 PLFA 分析技术是一种较为准确、有效的研究方法,能定量描述土壤环境中的微生物群体(陈振翔等, 2005)。

中国关于氮沉降对微生物群落结构影响的研究大多集中在热带和亚热带(刘蔚秋等, 2010; 袁颖红等, 2013; Wang *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2015),而对温带森林土壤的研究相对较少(赵超等, 2015a)。中国北方温带森林系统大多是受氮限制(韩雪, 2015),假设模拟氮沉降会缓解研究样地的氮限制状况,使得土壤微生物对氮添加产生积极响应。本研究选择温带辽东栎人工林地为研究对象,野外模拟氮沉降,采用 PLFA 分析技术,探讨氮沉降对土壤微生物群落结构的影响。微生物群落结构的变化能更好地预测植物生长及土壤理化性质的变化趋势,为氮限制条件下的人工林的实时治理提供微生物参数和指标,为研究氮沉降对温带森林生态系统中能量流动和物质循环影响提供理论参考。

1 研究地区与研究方法

1.1 研究区概况

本研究试验样地布设于北京西山北京林业大学试验林场(110°68′34″E, 31°54′52″N),地属暖温带半湿润大陆型季风气候区,春季干旱,夏季多雨,冬季干燥。年均气温为 11.7℃,年均降雨量为 638.8 mm,平均海拔为 133 m。土壤类型属褐土轻壤土。植被是地带性植被辽东栎(*Quercus liaotungensis*)人工林,树龄为 62 a,平均胸径 9.6 cm,平均株高 8.3 m。试验样地土壤基本理化性质本底值见表 1。

1.2 实验设计

北京地区氮沉降通量背景为 23.2 kg N · hm⁻² · a⁻¹(张颖等, 2006)。根据研究样地氮沉降背景值设置氮添加的强度(Magill *et al.*, 1997),本研究选择 2 种水平的氮添加,即低氮(LN; 50 kg N · hm⁻² · a⁻¹)和

表 1 土壤基本理化性质本底值
Table 1 The background values of soil basic physical and chemical properties

森林类型	pH	有机质 (g · kg ⁻¹)	全氮 (g · kg ⁻¹)	铵态氮 (mg · kg ⁻¹)	硝态氮 (mg · kg ⁻¹)
辽东栎	7.13±0.36	42.2±1.88	2.42±0.23	6.08±0.66	13.77±1.45

平均值±标准误差, n=3。

高氮(HN;150 kg N · hm⁻² · a⁻¹),每种水平的添加分为 3 种形态,即铵态氮(As:(NH₄)₂SO₄)、硝态氮(Na;NaNO₃)和混合态氮(AN;NH₄NO₃)。并同时设置空白对照样地,每种处理设置 3 个重复,共 21 个土壤样方。样地面积均为 10 m × 10 m,为防止样方间相互干扰,各个样方间留出 1.5 m 宽的缓冲带。将年度氮添加量分成 8 等份,于 2011 年 3 月初开始,于每年生长季 3—10 月初平均喷施于样地中。施氮时将对应剂量的氮肥溶解于 1 L 水中,用喷雾器向该样方均匀喷施,同时于对照样地喷施同等剂量的清水,消除外源水分因子干扰。

1.3 土壤样品采集与处理

施氮第 3 年末(2013 年 12 月末),在样地中采用多点(5~8 点)梅花布点采样法进行采样。采集各样方表层(0~10 cm)土壤,取出土壤中的残留根系、石块及其他杂质,过 2 mm 钢筛,并充分混合均匀。土样混合后,将每个样方混合均匀的土壤样本装入无菌聚乙烯密封袋中,并放到装入冰袋的保温箱中带回实验室,一份置于-80 ℃超低温冰箱中保存,尽快完成土壤 PLFA 微生物群落结构的测定分析;另一份置于 4 ℃冰箱冷藏保存,尽快完成土壤基本理化性质的测定。

1.4 土壤样品测定方法

土壤基本理化性质测定方法(鲁如坤,2000)如下:土壤含水量采用鲜土烘干法测定;pH 值采用电位法测定;土壤有机质采用重铬酸钾容量法;土壤全氮采用开氏消煮法;土壤铵态氮(NH₄⁺-N)采用 KCl 浸提-靛酚蓝比色法;土壤硝态氮(NO₃⁻-N)采用酚二磺酸比色法。

磷脂脂肪酸提取采用修正的 Blight-Dyer 法(Frostegård *et al.*,1993),取 4.0 g 新鲜土样,通过氯仿-甲醇-柠檬酸缓冲液振荡提取总脂,经过硅胶柱

层析分离得到磷脂脂肪酸。甲脂化后,以十九烷酸为内标,由安捷伦气相色谱质谱联用仪 GC-MS(6890GC,5973MSD)完成检测,PLFA 定量用峰面积和内标曲线法,含量用 nmol · g⁻¹干土表示。不同类群的微生物具有独特的 PLFA 特征谱图,可根据内标 C19:0 计算得出土壤微生物 PLFA 总量和各类群微生物 PLFA 含量,对微生物群落进行识别和定量分析(Frostegård *et al.*,1996)。

1.5 数据处理

采用 Microsoft Excel 2013、Origin 9.1 和 SPSS 22.0 软件对实验数据进行统计分析。通过双向方差分析及 LSD 多重检验进行差异显著性分析,采用 Pearson 相关系数法分析土壤微生物 PLFA 含量与土壤基本理化性质的相关关系。

2 结果与分析

2.1 不同氮添加对土壤基本理化性质的影响

各样地土壤基本理化性质见表 2。氮添加并没有使土壤 pH 值、有机质和全氮含量发生显著变化。随着氮添加水平的增加,土壤铵态氮、硝态氮含量均表现出逐渐升高的趋势。混合态氮和硝态氮添加均显著增高了土壤硝态氮含量,而铵态氮添加未显著改变土壤硝态氮含量。另外,土壤铵态氮含量对不同形态的氮添加的响应表现为混合态氮添加>铵态氮添加>硝态氮添加。

2.2 不同氮添加对土壤微生物生物量的影响

2.2.1 不同氮添加对微生物总 PLFA 含量的影响

不同氮添加处理均增加了微生物总 PLFA 含量:Na-LN、Na-HN、As-LN、As-HN、AN-LN 和 AN-HN 处理分别使微生物总 PLFA 含量增加了 32%、48%、26%、45%、47%和 69%。方差分析表明,微生物总 PLFA 含量对不同形态的氮添加的响应表现为混

表 2 不同氮添加下的土壤基本理化性质的变化
Table 2 Changes of soil properties under different nitrogen addition treatments

处理		pH 值	有机质 (g · kg ⁻¹)	全氮 (g · kg ⁻¹)	铵态氮 (mg · kg ⁻¹)	硝态氮 (mg · kg ⁻¹)
对照		7.01±0.29 a	16.57±0.68 b	2.39±0.21 a	6.08±0.21 d	13.66±1.26 d
As	LN	6.91±0.30 a	17.99±0.66 a	2.48±0.35 a	8.19±0.33 b	14.26±1.22 d
	HN	6.93±0.32 a	17.79±0.61 a	2.55±0.22 a	8.22±0.38 b	15.2±1.33 d
Na	LN	6.95±0.32 a	17.03±0.88 ab	2.45±0.36 a	7.18±0.34 c	19.95±1.46 c
	HN	6.71±0.30 a	17.84±0.92 a	2.59±0.29 a	7.89±0.22 bc	26.72±2.04 b
AN	LN	6.91±0.24 a	18.38±1.03 a	2.48±0.37 a	12.58±0.45 a	26.73±2.22 b
	HN	6.85±0.36 a	18.05±0.82 a	2.63±0.32 a	12.93±0.32 a	29.96±2.45 a

平均值±标准误差,n=3;同列不同字母表示处理间差异显著(P<0.05,LSD法);Control 代表对照,As-LN 代表铵态氮低氮,As-HN 代表铵态氮高氮,Na-LN 代表硝态氮低氮,Na-HN 代表硝态氮高氮,AN-LN 代表混合态低氮,AN-HN 代表混合态高氮。

表 3 不同形态和水平的氮添加下土壤各类群微生物 PLFA 重复测量方差分析结果(*F* 值)
Table 3 Results (*F* values) of repeated measures ANOVA of soil PLFA content under different levels and forms of N addition

变异来源	总量	细菌	真菌	真菌/细菌	放线菌	G ⁺ 细菌	G ⁻ 细菌	G ⁺ /G ⁻
水平	40.580 **	83.187 **	55.584 **	0.623ns	0.140ns	251.181 **	25.737 **	8.603 *
形态	20.683 **	41.695 **	30.942 **	1.243ns	19.209 **	72.810 **	5.563 *	10.190 **
水平×形态	0.357ns	16.185 **	0.664ns	6.322 *	0.884ns	11.044 **	0.910ns	1.155ns

** *P*<0.01,表示差异极显著,* *P*<0.05,表示差异显著,ns.*P*>0.05 表示差异不显著。

合态氮添加>硝态氮添加和铵态氮添加>对照 (*P*<0.01),但硝态氮添加和铵态氮添加之间没有显著差异;微生物总 PLFA 含量对不同水平的氮添加的响应表现为高氮添加>低氮添加>对照 (*P*<0.01)。施氮水平和施氮形态对土壤微生物总 PLFA 含量没有交互影响 (*P*>0.05)(图 1,表 3)。

2.2.2 不同氮添加对细菌 PLFA 含量的影响 不同氮添加处理均增加了细菌 PLFA 含量: Na-LN、Na-HN、As-LN、As-HN、AN-LN 和 AN-HN 处理分别使细菌 PLFA 含量增加了 26%、41%、12%、27%、27%和 79%。方差分析表明,细菌 PLFA 含量对不同形态的氮添加的响应表现为混合态氮添加>硝态氮添加>铵态氮添加>对照 (*P*<0.01),对不同水平的氮添加的响应表现为高氮添加>低氮添加>对照 (*P*<0.01)。施氮水平和施氮形态对细菌 PLFA 含量有显著的交互作用 (*P*<0.01),共同作用促进细菌 PLFA 含量的增长(图 2,表 3)。

不同氮添加处理均增加了 G⁺ 和 G⁻ 细菌 PLFA 含量:Na-LN、Na-HN、As-LN、As-HN、AN-LN 和 AN-HN 处理分别使 G⁺ 细菌 PLFA 含量增加了 42%、88%、31%、56%、55%、110%和 34%,使 G⁻ 细菌

PLFA 含量增加了 34%、63%、38%、45%、31% 和 51%。方差分析表明,G⁺细菌和 G⁻细菌的 PLFA 含量对不同水平的氮添加的响应表现为高氮添加>低氮添加>对照 (*P*<0.01);G⁺细菌 PLFA 含量对不同形态的氮添加的响应表现为混合态氮添加>硝态氮添加>铵态氮添加>对照 (*P*<0.01),不同形态的氮添加对 G⁻细菌 PLFA 含量的改变没有显著差异(图 3)。施氮水平和施氮形态对 G⁺细菌 PLFA 含量有显著的交互作用 (*P*<0.01),共同作用促进 G⁺细菌 PLFA 含量的增长;但对 G⁻细菌 PLFA 含量没有交互影响 (*P*>0.05)(表 3)。

2.2.3 不同氮添加对真菌 PLFA 含量的影响 As-LN 添加样地的真菌 PLFA 含量与对照相当,Na-LN、Na-HN、As-HN、AN-LN、AN-HN 处理分别使真菌 PLFA 含量增加了 24%、63%、52%、62%和 89%。方差分析表明,真菌 PLFA 含量随着氮添加水平的增加而升高,表现为高氮添加>低氮添加>对照 (*P*<0.01);混合态氮添加显著高于铵态氮和硝态氮添加 (*P*<0.01)。施氮水平和施氮形态对真菌 PLFA 含量没有交互影响 (*P*>0.05)(图 2,表 3)。

2.2.4 不同氮添加对放线菌 PLFA 含量的影响 混合态氮添加显著增加了土壤放线菌 PLFA 含量 (*P*<0.01),其中 AN-LN 和 AN-HN 分别使放线菌

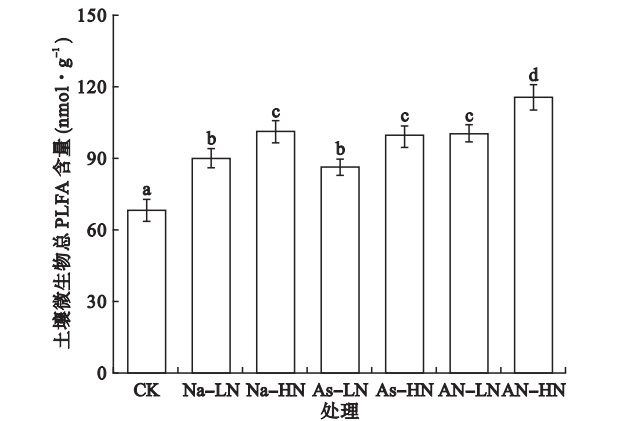


图 1 不同氮添加下土壤微生物总磷脂脂肪酸 (PLFA) 含量
Fig.1 Concentrations of soil microbial total PLFA under different nitrogen addition treatments
CK 代表对照,As-LN 代表铵态氮低氮,As-HN 代表铵态氮高氮,Na-LN 代表硝态氮低氮,Na-HN 代表硝态氮高氮,AN-LN 代表混合态低氮,AN-HN 代表混合态高氮。下同。

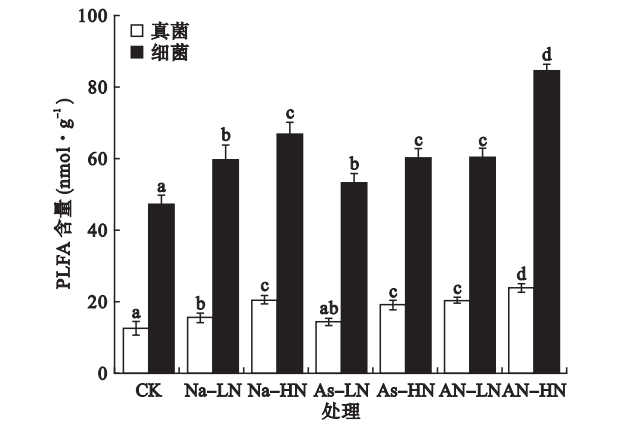


图 2 不同氮添加下土壤真菌、细菌磷脂脂肪酸 (PLFA) 含量
Fig.2 Concentrations of soil bacteria and fungi PLFA under different nitrogen addition treatments

PLFA 含量增加了 16% 和 20%, 而铵态氮和硝态氮添加的样地放线菌 PLFA 含量则与对照相当; 不同氮添加水平对放线菌 PLFA 含量未产生显著性影响 ($P>0.05$, 图 4)。施氮水平和施氮形态对放线菌 PLFA 含量没有交互影响 ($P>0.05$) (表 3)。

2.2.5 不同氮添加对真菌/细菌和革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌的影响 土壤真菌与细菌的比 (F/B) 和革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌的比 (G^+/G^-), 显示了土壤中各菌群生物量的变化。分析各样地土壤 F/B 发现, 与对照相比, 仅混合态低氮添加的 F/B 显著高于对照, 其他氮添加处理均未显著改变土壤真菌与细菌之比。施氮水平和施氮形态对土壤 F/B 有显著的交互作用 ($P<0.05$), (表 3)。

分析各样地土壤 G^+/G^- 发现 (图 5), 混合态氮添加和硝态氮高氮添加显著提高了 G^+/G^- , 而铵态氮添加和硝态氮低氮添加未显著改变 G^+/G^- (图 5)。

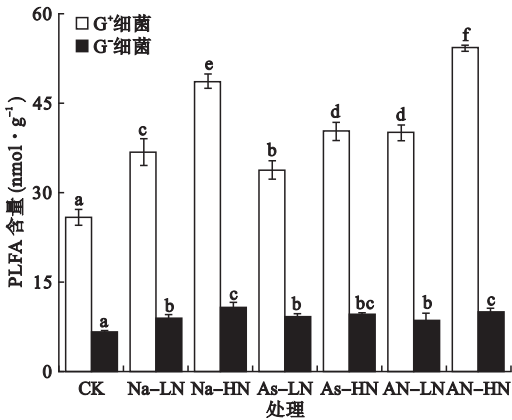


图 3 不同氮添加下土壤革兰阳性细菌、革兰阴性细菌磷脂脂肪酸 (PLFA) 含量

Fig.3 Concentrations of soil G^+ and G^- bacteria PLFA under different nitrogen addition treatments

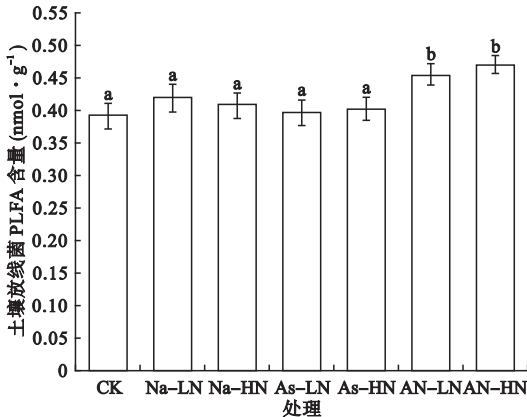


图 4 不同氮添加下土壤放线菌磷脂脂肪酸 (PLFA) 含量

Fig.4 Concentrations of soil actinomycetes PLFA under different nitrogen addition treatments

施氮水平和施氮形态均显著影响了土壤 G^+/G^- ($P<0.05$), 但施氮水平和施氮形态对土壤 G^+/G^- 没有交互影响 (表 3)。

2.3 不同氮添加土壤微生物 PLFA 主成分分析

对不同氮添加样地土壤微生物 PLFA 进行主成分分析, 主成分 1 (PC1) 对总 PLFA 数据变异的贡献率为 72%, 主成分 2 (PC2) 对总 PLFA 数据变异的贡献率为 15%, 累计贡献率为 86% (图 6)。PC1 和 PC2 基本上能把不同形态和不同水平的氮添加处理区分开。PC1 的贡献率很高, G^+ 细菌、细菌、真菌、放线菌和微生物总 PLFA 含量在 PC1 上的载荷值较高, PC1 是它们的代表因子; G^- 细菌 PLFA 含量在 PC2 上的载荷值较高, PC2 是其代表因子 (图 7)。

由图 6 可见, 微生物群落分成了 4 种类型。As-HN 和 AN-LN 位于第 1 象限, 与 PC1 和 PC2 呈正相关关系; CK 和 As-LN 位于第 2 象限, 与 PC1 呈负相关关系, 与 PC2 呈正相关关系; As-LN 和 Na-LN 位于第 3 象限, 与 PC1 和 PC2 呈负相关关系; AN-HN 和 Na-LN 位于第 4 象限, 与 PC1 呈正相关关系, 与 PC2 呈负相关关系。说明对照和 As-LN 添加样地的微生物结构类似, 微生物结构未发生显著变化。其他氮添加处理样地与对照相比, 空间距离较远, 微生物结构发生了显著改变。Na-LN 处理使 G^- 细菌显著增长, As-HN 和 AN-LN 处理使 G^+ 细菌、细菌、真菌、放线菌和微生物总 PLFA 含量均增长, Na-HN 和 AN-HN 处理与对照处理空间距离最远, 使土壤微生物总量、细菌、 G^+ 细菌、 G^- 细菌、真菌、放线菌的 PLFA 含量均显著增加。

2.4 土壤各菌群 PLFA 与土壤理化性质的关系

土壤理化指标与土壤微生物 PLFA 含量相关性

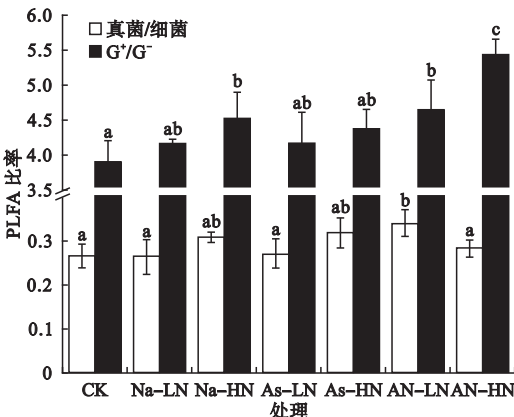


图 5 不同氮添加对土壤真菌/细菌和 G^+/G^- 的影响

Fig.5 The proportions of fungi/bacteria and G^+/G^- under different nitrogen addition treatments

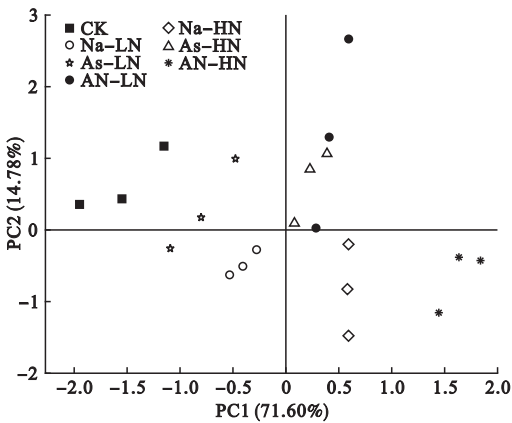


图 6 不同氮添加样地土壤微生物 PLFA 主成分分析
Fig.6 Principal component analysis of PLFA composition of microbial community under different nitrogen addition treatments

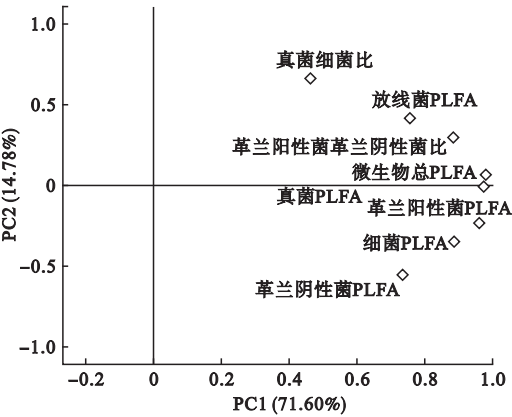


图 7 不同氮添加样地土壤微生物 PLFA 载荷因子贡献值
Fig.7 Eigenvector loadings of PLFA contributing to soil microbial communities ordination pattern under different nitrogen addition treatments

分析见表 4。土壤微生物总量、细菌、G⁺细菌、G⁻细菌、真菌、放线菌的 PLFA 含量均与土壤铵态氮、硝态氮含量呈极显著正相关关系。土壤微生物总量、真菌 PLFA 含量、真菌/细菌与土壤有机质呈极显著

表 4 土壤微生物 PLFA 与土壤理化指标相关分析
Table 4 Correlations between soil PLFA content and soil physical and chemical indicators

项目	pH	有机质	全氮	硝态氮	铵态氮
总 PLFA	-0.374	0.618 **	0.191	0.786 **	0.758 **
细菌 PLFA	-0.168	0.270	0.299	0.784 **	0.720 **
G ⁺ PLFA	-0.303	0.397	0.332	0.807 **	0.672 **
G ⁻ PLFA	-0.334	0.319	0.204	0.649 **	0.446 *
真菌 PLFA	-0.404	0.531 **	0.212	0.840 **	0.790 **
放线菌 PLFA	0.000	0.259	0.329	0.710 **	0.847 **
G ⁺ /G ⁻	-0.189	0.410	0.342	0.704 **	0.748 **
真菌/细菌	-0.300	0.549 **	-0.007	0.350	0.377

** P<0.01, * P<0.05。

正相关关系。

3 讨论

3.1 氮添加对土壤微生物生物量的影响

本研究表明,施氮 3 年后,土壤微生物总量、细菌、G⁺细菌、G⁻细菌以及真菌的生物量均有显著上升。细菌生物量与微生物总量接近,说明样地土壤微生物的群落结构以细菌为主体。铵态氮、硝态氮和混合态氮添加均能提高土壤微生物总量、细菌、G⁺细菌、G⁻细菌、真菌以及放线菌的生物量。这与一些学者的研究结果一致(薛璟花等,2007;白震等,2008;Rousk *et al.*,2011),部分氮添加试验已证实,氮添加对微生物生物量有显著的促进作用。然而,另一些学者的研究认为,氮添加可能使土壤微生物生物量减少(Li *et al.*,2010;Liu *et al.*,2010;刘蔚秋等,2010),这可能与施氮时间的长短以及土壤氮素的存在状态不同有关。由于土壤微生物分布广泛,不同质地的土壤中,微生物种类差异很大,不同菌群对氮饱和值响应的差异,可能会影响氮添加后微生物生物量的变化趋势。超过土壤微生物耐受范围的氮水平,必然会导致土壤微生物生物量的下降。

真菌/细菌(F/B),反映了土壤的结构和功能对不同土壤条件的响应,F/B 较高的土壤微生物群落可促进内源碳底物进一步矿化,即真菌破坏高抗性碳复合物,所得产物被细菌消耗(白震等,2008)。本文研究结果表明,仅有混合态低氮添加显著增加了 F/B,其他氮添加处理未显著干扰土壤细菌及真菌的群落组成。但 Rousk 等(2011)和 Demoling 等(2008)研究发现氮添加可能会使 F/B 降低。他们认为,氮添加后土壤有机物含量增加,但不易被土壤微生物分解,因此会影响微生物群落结构。值得注意的是,F/B 变化小并不意味着微生物结构没有变化,因为在细菌、真菌内部可能发生了结构的变化(赵超等,2015b)。另外,氮添加使 G⁺细菌和 G⁻细菌的生物量上升,G⁺/G⁻显著上升,说明了氮添加刺激了 G⁺细菌的大量增长。这与 Blasko 等(2013)和赵超等(2015b)研究结果一致。自然生态系统中,G⁺细菌在细菌结构中占优势,而氮添加处理增加了这种优势。G⁺细菌对底物利用的竞争力显著强于 G⁻细菌,使得 G⁺细菌能比 G⁻细菌更为迅速地繁殖。但毕明丽等(2010)的研究发现氮添加处理使 G⁺/G⁻变小。

3.2 氮添加对土壤微生物生物量的影响

对微生物 PLFA 主成分分析发现,As-LN 处理

样地微生物群落结构均与对照样地相似。Na-LN 处理距对照处理空间较近,变化较小,使 G^- 细菌显著增长。As-HN 和 AN-LN 处理样地微生物群落结构的变化格局相似,使 G^+ 细菌、细菌、真菌、放线菌和微生物总 PLFA 含量均增长,而 Na-HN 和 AN-HN 处理与对照处理空间距离最远,微生物群落结构变化最大,土壤各类群微生物生物量均有所上升。这表明尽管 F/B 变化小,但氮添加破坏了土壤原有种群间的竞争关系。不同种类的菌群对氮素的吸收能力存在差异,氮添加缓解了微生物的氮限制,使土壤微生物生物量上升,而一些氮素利用效率高的贫营养型菌群难以适应富营养条件,生物量可能会下降 (van Diepen *et al.*, 2010)。

3.3 土壤微生物群落结构的影响因素

影响微生物结构的因素是多方面的,本研究结果显示,土壤微生物总量、细菌、真菌、放线菌的生物量均与土壤铵态氮、硝态氮含量呈现显著正相关,表明研究对象所在的森林土壤中,氮素是影响微生物生长和发育的重要因素。土壤全氮和有机碳的主要来源是凋落物,适量的氮添加会加速凋落物的分解,增加土壤有机质和养分含量,从而导致土壤有机碳含量增加(赵超等, 2015b)。因此,氮添加会通过改变凋落物的数量和质量,进而影响土壤的微环境,改变土壤养分的有效性,使微生物的数量发生改变 (Cullings *et al.*, 2003)。另外,土壤微生物利用地下根系分泌物生长的能力受根系分泌物氮输入通量的制约,因此,土壤根系分泌物氮含量也是改变土壤微生物群落组成的重要因子(王红等, 2008; Drake *et al.*, 2013)。

4 结 论

本研究运用磷脂脂肪酸分析方法,对土壤微生物群落结构变化进行了分析。结果表明,模拟氮沉降初期使土壤中有机质、铵态氮和硝态氮含量增加,为土壤微生物的生长提供了丰富的营养来源,使微生物总量、细菌、真菌、放线菌生物量显著上升,土壤微生物总量、细菌、真菌的 PLFA 含量均随施氮水平的增加而升高;混合态氮添加显著提高了微生物总量、细菌、真菌和放线菌的 PLFA 含量。除铵态氮低氮添加样地外,微生物群落结构均发生了改变。氮沉降对微生物群落的影响是多方面的,不同微生物类群之间的相互联系变化复杂,还需长期观测和深入研究。

参考文献

- 白震, 张明, 闫颖, 等. 2008. 长期施用氮、磷及有机肥对农田黑土 PLFA 的影响. 浙江大学学报, **34**(1): 73–80.
- 毕明丽, 宇万太, 姜子绍, 等. 2010. 利用 PLFA 方法研究不同土地利用方式对潮棕壤微生物群落结构的影响. 中国农业科学, **43**(9): 1834–1842.
- 陈振翔, 于鑫, 夏明芳, 等. 2005. 磷脂脂肪酸分析方法在微生物生态学中的应用. 生态学杂志, **24**(7): 828–832.
- 韩雪. 2015. 土壤中的氮对温带森林植物-微生物竞争氮素的影响(硕士学位论文). 北京: 北京林业大学.
- 李阜棣. 1993. 当代土壤微生物学的活跃研究领域. 土壤学报, **30**(3): 229–236.
- 刘蔚秋, 刘滨扬, 王江, 等. 2010. 不同环境条件下土壤微生物对模拟大气氮沉降的响应. 生态学报, **30**(7): 1691–1698.
- 鲁如坤. 2000. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社.
- 吕超群, 田汉勤, 黄耀. 2007. 陆地生态系统氮沉降增加的生态效应. 植物生态学报, **31**(2): 205–218.
- 王红, 范志平, 邓东周, 等. 2008. 不同环境因子对樟子松人工林土壤有机碳矿化的影响. 生态学杂志, **27**(9): 1469–1475.
- 王楠, 王帅, 高强, 等. 2014. 施氮水平对不同肥力土壤微生物学特性的影响. 水土保持学报, **28**(4): 148–152.
- 薛璟花, 莫江明, 李炯, 等. 2007. 土壤微生物数量对模拟氮沉降增加的早期响应. 广西植物, **27**(2): 174–179.
- 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.
- 张颖, 刘学军, 张福锁, 等. 2006. 华北平原大气氮素沉降的时空变异. 生态学报, **26**(6): 1633–1639.
- 赵超, 彭赛, 阮宏华, 等. 2015a. 氮沉降对土壤微生物影响的研究进展. 南京林业大学学报: 自然科学版, **39**(3): 149–155.
- 赵超, 张文文, 阮宏华, 等. 2015b. 模拟氮沉降对杨树人工林土壤微生物群落结构的影响. 生态学杂志, **34**(2): 360–366.
- 周丹燕, 卜丹蓉, 葛之葳, 等. 2015. 氮添加对沿海不同林龄杨树人工林土壤动物群落的影响. 生态学杂志, **34**(9): 2553–2560.
- Álvaro-Fuentes J, Morell FJ, Madejón E, *et al.* 2013. Soil biochemical properties in a semiarid Mediterranean agroecosystem as affected by long-term tillage and N fertilization. *Soil and Tillage Research*, **129**: 69–74.
- Artursson V, Finlay RD, Jansson JK. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology*, **8**: 1–10.
- Bardgett RD, Hobbs PJ, Frostegård Å. 1996. Changes in soil

- fungal: bacterial biomass ratios following reductions in the intensity of management of an upland grassland. *Biology and Fertility of Soils*, **22**: 261–264.
- Blaško R, Högberg P, Bach LH, *et al.* 2013. Relations among soil microbial community composition, nitrogen turnover, and tree growth in N-loaded and previously N-loaded boreal spruce forest. *Forest Ecology and Management*, **302**: 319–328.
- Bobbink R, Hicks K, Galloway J, *et al.* 2010. Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: A synthesis. *Ecological Applications*, **20**: 30–59.
- Cullings KW, New MH, Shilpa M, *et al.* 2003. Effects of litter addition on ectomycorrhizal associates of a lodgepole pine (*Pinus contorta*) stand in Yellowstone National Park. *Applied and Environmental Microbiology*, **69**: 3772–3776.
- Demoling F, Nilsson LO, Bååth E. 2008. Bacterial and fungal response to nitrogen fertilization in three coniferous forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **40**: 370–379.
- Drake JE, Darby BA, Giasson MA, *et al.* 2013. Stoichiometry constrains microbial response to root exudation: Insights from a model and a field experiment in a temperate forest. *Biogeosciences*, **10**: 821–838.
- Fang Y, Yoh M, Koba K, *et al.* 2011. Nitrogen deposition and forest nitrogen cycling along an urban-rural transect in southern China. *Global Change Biology*, **17**: 872–885.
- Frostegård Å, Bååth E, Tunlio A. 1993. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, **25**: 723–730.
- Frostegård Å, 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.
- Griepentrog M, Bodé S, Boeckx P, *et al.* 2013. Increased nitrogen deposition did not affect the composition and turnover of plant and microbial biomarkers in forest soil density fractions. *Geophysical Research Abstracts*, **15**: EGU2013–1401.
- Insam H, Hutchinson T, Reber H. 1996. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora. *Soil Biology and Biochemistry*, **28**: 691–694.
- Li LJ, Zeng DH, Yu ZY, *et al.* 2010. Soil microbial properties under N and P additions in a semi-arid, sandy grassland. *Biology and Fertility of Soils*, **46**: 653–658.
- Liu L, Greaver TL. 2010. A global perspective on belowground carbon dynamics under nitrogen enrichment. *Ecology Letters*, **13**: 819–828.
- 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.
- Magill AH, Aber JD, Hendricks JJ, *et al.* 1997. Biogeochemical response of forest ecosystems to simulated chronic nitrogen deposition. *Ecological Applications*, **7**: 402–415.
- Rousk J, Brookes PC, Bååth E. 2011. Fungal and bacterial growth responses to N fertilization and pH in the 150-year ‘Park Grass’ UK grassland experiment. *FEMS Microbiology Ecology*, **76**: 89–99.
- Song YY, Song CC, Li YC, *et al.* 2013. Short-term effects of nitrogen addition and vegetation removal on soil chemical and biological properties in a freshwater marsh in Sanjiang Plain, Northeast China. *Catena*, **104**: 265–271.
- Treseder KK. 2008. Nitrogen additions and microbial biomass: A meta-analysis of ecosystem studies. *Ecology Letters*, **11**: 1111–1120.
- van Diepen LT, Lilleskov EA, Pregitzer KS, *et al.* 2010. Simulated nitrogen deposition causes a decline of intra- and extraradical abundance of arbuscular mycorrhizal fungi and changes in microbial community structure in northern hardwood forests. *Ecosystems*, **13**: 683–695.
- Wang Q, Wang Y, Wang S, *et al.* 2014. Fresh carbon and nitrogen inputs alter organic carbon mineralization and microbial community in forest deep soil layers. *Soil Biology and Biochemistry*, **72**: 145–151.
- Zechmeister-Boltenstern S, Michel K, Pfeffer M. 2011. Soil microbial community structure in European forests in relation to forest type and atmospheric nitrogen deposition. *Plant and Soil*, **343**: 37–50.

作者简介 许可,男,1992年生,硕士研究生,主要从事全球气候变化及生物地球化学循环研究。E-mail: xuke920328@163.com

责任编辑 魏中青