

南亚热带典型乡土阔叶人工林与天然次生林土壤细菌群落结构和多样性的相异性

梁泽丽, 秦佳琪, 何江, 刘含颖, 王婷, 覃林*

(广西大学林学院, 广西森林生态与保育重点实验室, 广西南宁 530004)

摘要: 【目的】探讨乡土阔叶人工林与天然次生林土壤细菌群落特征的差异及其调控的土壤环境因子, 为优化和改造现有人工林向近自然林转换的经营策略提供土壤微生物学方面的科学依据。【方法】以红锥 (*Castanopsis hicklii*, CHP)、火力楠 (*Michelia macclurei*, MLP) 和米老排 (*Mytilaria laosensis*, PSF) 等 3 个南亚热带典型乡土阔叶人工林及天然次生林 (Primary secondary forest, PSF) 为对象, 对各林分 0~20、20~40 和 40~60 cm 等 3 个土壤层次的样品进行高通量测序和土壤理化性质测定, 探讨了土壤细菌群落结构、Alpha 多样性、分子生态网络结构对不同林分的响应。

【结果】①天然次生林和乡土阔叶人工林的土壤细菌群落结构差异显著, 且天然次生林比乡土阔叶人工林拥有较高的土壤细菌 Alpha 多样性和网络结构复杂性。②土壤 pH、含水量、NO₃⁻-N 和速效磷是导致乡土阔叶人工林与天然次生林土壤细菌群落结构、Alpha 多样性和网络结构复杂性存在差异的主要影响因子。【结论】基于土壤细菌群落结构和多样性的视角, 在保护好现有天然林、天然次生林的同时, 提倡营造模仿天然次生林的多阔叶树种混交林, 可以提升土壤细菌多样性和网络结构复杂性, 从而促使该地区人工林土壤生态功能得到充分和可持续发展。

关键词: 土壤微生物; 森林管理; 乡土树种; Illumina 高通量测序; 分子生态网络分析

中图分类号: S714.3 文献标识码: A 文章编号: 0564-3945(2024)04-1060-11

DOI: 10.19336/j.cnki.trtb.2023110703

梁泽丽, 秦佳琪, 何江, 刘含颖, 王婷, 覃林. 南亚热带典型乡土阔叶人工林与天然次生林土壤细菌群落结构和多样性的相异性 [J]. 土壤通报, 2024, 55(4): 1060-1070

LIANG Ze-li, QIN Jia-qi, HE Jiang, LIU Han-ying, WANG Ting, QIN Lin. Dissimilarity of Soil Bacterial Community Structure and Diversity between Typical Native Broadleaf Plantation and Primary Secondary Forest in South Subtropical China[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2024, 55(4): 1060-1070

【研究意义】细菌是森林土壤既最丰富又最活跃的微生物类群^[1-2]。不同种类的细菌通过协同、竞争等相互作用关系在土壤环境中形成高度复杂的生态网络^[3], 共同参与凋落物分解、腐殖质形成和营养元素循环等多个生态过程^[4-5], 在维持森林生态系统功能和服务方面起着关键作用^[6]。因此, 探究不同树种林分中土壤细菌群落结构、多样性和生态网络结构等特征差异及其潜在驱动力, 可有的放矢地经营现有人工林, 为高质量森林的培育与管理提供新的思路。【前人研究进展】我国亚热带地区因水热资源丰富, 是进行造林与再造林的优先发展区域; 将人工林从针叶树种转变为高价值乡土阔叶树种是当前该地区人工林经营的发展趋势^[7]。相比针叶人工林, 尽管乡土阔叶人工林可以很好地实现经济效益与增加物种多样性、保持土壤肥力等生态效益的有机统

一^[8], 但仍面临着树种单一、结构简单等问题。为实现人工林多目标经营, 将树种单一的纯林改造成以乡土阔叶树种为主的多树种混交林逐渐被应用于人工林可持续经营实践中^[9]。由于该经营模式强调使人工林达到接近天然林的状态, 因此, 人工林和天然次生林之间的相异性是引导人工林向近自然林转变过程中值得关注的科学问题。国内外学者已经对此展开了诸多研究: 例如 Su 等^[10] 研究发现, 与天然次生林相比, 人工林灌木物种多样性较低, 而草本层和苔藓植物物种多样性较高; Yuan 等^[11] 对天然次生林与马尾松人工林土壤有机碳储量及组分的比较研究揭示, 在亚热带地区, 天然次生林更适合有机碳固存和土壤碳汇; Wu 等^[12] 通过磷脂脂肪酸分析法测定天然次生林和 2 种人工林土壤微生物群落的多样性, 结果表明天然次生林比人工林具有更高的土

收稿日期: 2023-11-08; 修订日期: 2024-01-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31560109) 资助

作者简介: 梁泽丽 (1998-), 女, 广西玉林, 硕士研究生, 主要研究方向为森林生态学。E-mail: 981658803@qq.com

*通讯作者: E-mail: nilniq@gxu.edu.cn

壤微生物生物量和物种丰富度。【本研究切入点】由于微生物检测技术的限制, 早期针对人工林和天然次生林差异的比较研究多集中在植被群落和土壤养分特征方面。即使涉及到土壤微生物群落, 大部分研究也只停留在人工林和天然次生林土壤微生物量和微生物大类群层次。总之, 当前有关我国亚热带地区乡土阔叶人工林与天然次生林土壤细菌群落结构、Alpha 多样性和分子生态网络结构的相异性研究还相对缺乏。【拟解决的问题】本研究以我国南亚热带地区典型乡土阔叶树种红锥 (*Castanopsis hicklii*, CHP)、火力楠 (*Michelia macclurei*, MMP)、米老排 (*Mytilaria laosensis*, MLP) 等人工纯林和天然次生林 (Primary secondary forest, PSF) 为研究对象, 依据各林分 0~20、20~40 和 40~60 cm 等 3 个土壤层次的细菌高通量测序数据, 阐明乡土阔叶人工林和天然次生林土壤细菌群落结构和多样性的差异及其调控的土壤环境因子, 以期深化对南亚热带地区乡土阔叶人工林与天然次生林土壤细菌群落特征变化规律的理解, 并从土壤细菌群落结构和多样性视角对优化和改造现有人工林向近自然林转换的经营策略提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究地点中国林业科学研究院热带林业实验中心位于广西壮族自治区凭祥市 (106°50' E, 22°10' N), 是我国南方树种最多、规模最大的乡土珍稀阔叶树人工林试验示范区。该地区位于南亚热带季风气候区, 受海洋影响大, 具有冬温夏热、降水充沛、季风发达等特点。年均气温 20.5~21.7℃, 年平均降

雨量 1200~1500 mm, 雨热同期, 多发生在每年 4 月至 9 月。地貌以低山丘陵为主, 土壤为花岗岩发育的山地红壤, 土层厚度在 80 cm 以上; 地带性植被属亚热带常绿阔叶林^[13]。

2017 年 2 月, 在研究地区内对立地条件与经营措施相似的红锥、火力楠、米老排等人工纯林以及天然次生林进行土壤取样 (表 1)。3 个乡土阔叶人工林的初始密度为 2500 株 hm^{-2} , 且均是在杉木林采伐迹地上种植, 而杉木林是 20 世纪 50 年代在天然阔叶林采伐迹地上种植的。红锥林于 1983 年种植, 并经过了 3 次间伐 (间伐强度均为 30%) 而形成复层林; 火力楠林和米老排林均是 1981 年种植, 并经历了 2 次间伐 (间伐强度约为 30%)。天然次生林是 20 世纪 50 年代采伐天然阔叶林后弃荒形成, 现林分完全由阔叶树种组成, 其主要树种为鸭脚木 (*Schefflera minutistellata*)、灰毛浆果楝 (*Cipadessa cinerascens*) 和青果榕 (*Ficus variegata*) 等。

1.2 样地设置与样品采集

至少间隔 20 m 设置一块 20 m × 20 m 的样地进行采样, 每个林分共三块样地。为使数据均匀准确, 沿对角线在每块样地内随机选择 3 个取样点, 用土钻 (内径 5.0 cm) 采集 0~20、20~40 和 40~60 cm 等 3 个土壤层次的土样。将同层土样充分混合均匀, 无菌密封保存于采样袋中并做好标记后放置在生物冰袋中进行冷藏以便运回实验室。4 个研究林分共计 36 个混合土样。在实验室剔除杂质并研磨过 2 mm 筛后, 所有土样分为三份: 一份 4℃ 保鲜用于测定土壤硝态氮和铵态氮含量; 一份经室内自然风干后过 0.25 mm 筛, 用于测定其他土壤理化性质; 一份 -80℃ 冷冻保存用于提取土壤 DNA。

表 1 林分概况

Table 1 General information of the studied stands

林分类型 Stand type	海拔 (m) Altitude	坡度 (°) Slope	坡向 Aspect	胸径 (cm) Diameter at breast height	树高 (m) Tree height	密度 (tree hm^{-2}) Density
CHP	530	30	南	主林层 24.7 次林层 10.2	主林层 18.8 次林层 8.5	主林层 340 次林层 612
MMP	550	35	东北	17.4	18.0	1225
MLP	550	30	东北	19.2	19.7	1208
PSF	288	28	东南	14.4	8.9	2042

注: CHP, 红锥林; MMP, 火力楠林; MLP, 米老排林; PSF, 天然次生林。下同。

1.3 土壤理化性质测定

本研究测定的土壤理化性质指标及其具体测定方法如表 2 所示。

1.4 高通量测序

选择 PowerSoil® DNA Isolation Kit 试剂盒 (Mo

Bio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA) 进行土壤 DNA 抽提。利用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳判断 DNA 的质量是否能用于制备 miseq 文库, 其中 DNA 的浓度和纯度由紫外微量分光光度计 (Thermo Nano Drop 2000) 进行测定。基于土壤细菌 16S rRNA 的 V4~

表 2 土壤理化性质的测定方法

Table 2 The determination method of soil physicochemical properties

指标 Indicator	测定方法 Test method
Soil water content (SWC)	烘干法 ^[14]
pH	水土之比为2.5:1的电位法 (Prtavo 907 MULTI pH, 德国) ^[14]
Soil organic carbon (SOC)	重铬酸钾法 ^[14]
Total nitrogen (TN)	浓硫酸-高氯酸消解后全自动化学元素分析仪 (SmartChem200, 法国) ^[14]
Total phosphorus (TP)	氢氧化钠碱熔-钼锑抗比色法 ^[15]
NO ₃ ⁻ -N	硫酸钙浸提法的全自动化学元素分析仪 (SmartChem200, 法国) ^[14]
NH ₄ ⁺ -N	碱扩散法的全自动化学元素分析仪 (SmartChem200, 法国) ^[14]
Available phosphorus (AP)	双酸浸提法的全自动化学元素分析仪 (SmartChem200, 法国) ^[15]
C/N	由SOC与TN的比值计算得出

注: SWC, 含水量; SOC, 有机碳; TN, 总氮; TP, 总磷; NO₃⁻-N, 硝态氮; NH₄⁺-N, 铵态氮; AP, 速效磷; C/N: 碳氮比。下同。

V5 区基因片段, 采用两步 PCR 扩增法对其进行扩增。经 2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定其质量并根据美国 AXYGEM 公司的 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒说明书进行产物纯化后, 采用 FTC-3000™ real-time PCR 仪进行定量。定量后进行均一化混匀, 文库制备结束。两次 PCR 扩增的反应体系和条件见彭雯等^[16], 使用的特异引物为 515F 与 926R^[17]。高通量测序工作委托上海微基生物科技有限公司 Illumina Miseq 2x300 bp 完成。

根据 barcode 信息区分和统计每个样本的有效序列后, 采用 Trimmomatic 软件和 FLASH 软件进行序列质控和拼接。通过设置参数 maxambig = 0, maxhomop = 8, minlength = 200, maxlength = 580 对质控和拼接后的序列进行优化。根据 97% 的相似度水平, 对所有优化序列进行 OTU 聚类。然后通过与 Silva (Release123, <http://www.arb-silva.de>) 数据库进行比对, 在置信度阈值为 0.8 的水平下获得每个 OTU 代表序列的物种分类信息。上述操作在 mothur (classify.seqs) 软件和 USEARCH 软件中进行。

1.5 数据处理与分析

为了探究土壤细菌群落之间的潜在联系, 根据高通量测序得到的 OTU 丰度和物种注释信息表, 在 R 4.2.2 软件上构建土壤微生物网络。首先, 通过 “Hmisc” 和 “igraph” 包, 选择在所有样本中平均相对丰度 > 0.1% 的 OTU 进行 Spearman 相关性矩阵分析; 其次, 选择相关系数 $r > |0.9|$ 且显著性 $P < 0.05$ 的数值构建各林分的土壤细菌生态网络, 并在 Gephi 0.9.2 软件中进行生态网络的可视化; 最后, 参照 Ma 等^[18] 所用的子网络构建方法, 通过 R 包 igraph 里的函数 “subgraph ()”, 根据各样本中所包含的 OTU 以及 OTU 间的关系, 从所构建的生态网络中分别提取各样本的子网络, 并计算其对应的拓扑参数 (节点数、边数和平均连接度) 来表征网络的规

模和复杂程度^[19-21]。

使用 R 4.2.2 软件中的 vegan 包函数 “rarefy ()”, 根据各样本 OTU 序列数之和, 按最小序列数进行抽平; 而后又通过 vegan 包中的 “estimateR ()” 和 “diversity ()” 函数计算观测种数 (OTU 数)、群落丰富度指数 (Ace 指数)^[22] 和群落多样性指数 (Shannon 指数)^[23] 来表征土壤样品的细菌群落 Alpha 多样性。利用双因素方差分析 (Two-way ANOVA) 检验不同林分类型不同土层的土壤理化性质、细菌多样性指数和生态网络拓扑参数的差异, 并用 Duncan 法进行多重比较, 以上分析在 SPSS 27.0 软件 (IBM SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 中进行。基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析 (PCoA), 并采用置换多元方差分析 (PERMANOVA) 检测不同林分土壤样品细菌群落结构的差异, 进而利用 Mantel 检验探讨土壤环境因子与细菌群落结构的关系; 上述计算分别由 R 4.2.2 软件 vegan 包中 “vegdist ()” 函数和 “adonis ()” 函数 (999 次置换检验), 以及 linkET 包中 “mantel_test ()” 函数完成。使用 Pearson 相关分析分别探究土壤细菌 Alpha 多样性、网络拓扑参数与土壤环境因子的关系。

2 结果与分析

2.1 乡土阔叶人工林与天然次生林土壤理化性质的差异

双因素方差分析结果可知 (表 3), 林分类型极显著影响了土壤含水量、pH、总氮、硝态氮和速效磷 ($P < 0.01$); 土层深度对土壤有机碳、总氮、硝态氮和速效磷均影响极显著 ($P < 0.01$), 而对碳氮比影响显著 ($P < 0.05$); 林型与土层交互作用仅对土壤速效磷含量影响极显著 ($P < 0.01$)。由表 3 可知, 在表层土壤 (0 ~ 20 cm), 是天然次生林土壤

pH 和速效磷显著高于 3 个乡土阔叶人工林, 而其土壤含水量则显著低于乡土阔叶人工林; 天然次生林土壤总氮、硝态氮分别显著低于火力楠林及显著高于红锥林 ($P < 0.05$)。在中层土壤 (20 ~ 40 cm), 是天然次生林土壤 pH 显著高于乡土阔叶人工林, 土壤含水量显著低于乡土阔叶人工林, 而其土壤硝态氮则分别显著高于红锥林及显著低于火力楠林 ($P < 0.05$); 土壤速效磷表现为 4 个林分间均差异不显著。

在底层土壤 (40 ~ 60 cm), 是天然次生林土壤 pH 显著高于乡土阔叶人工林; 天然次生林土壤含水量显著低于米老排和火力楠林, 而其土壤硝态氮、速效磷则分别显著高于红锥林以及显著高于米老排林和红锥林 ($P < 0.05$); 土壤总氮表现为 4 个林分间均差异不显著。除土壤碳氮比外, 4 个林分的其他 4 个土壤指标 (有机碳、总氮、硝态氮和速效磷) 均随土层深度的增加而呈下降趋势 (表 3)。

表 3 不同林分不同土层土壤理化性质的方差分析 (平均值 \pm 标准差, $n=3$)Table 3 Variance of soil physicochemical properties among different soil layers in different stands (Mean \pm SD, $n=3$)

林分类型 Stand type	土层 Soil layer	含水量 SWC (%)	pH	有机碳 SOC (g kg ⁻¹)	总氮 TN (g kg ⁻¹)	总磷 TP (g kg ⁻¹)	硝态氮 NO ₃ -N (mg kg ⁻¹)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N (mg kg ⁻¹)	速效磷 AP (mg kg ⁻¹)	碳氮比 C/N
CHP		20.73 \pm 0.31 Ba	3.91 \pm 0.17 Bb	21.92 \pm 1.92 Aa	1.53 \pm 0.59 ABa	0.97 \pm 0.04 Aa	2.66 \pm 0.16 Ba	12.49 \pm 0.08 Aa	32.81 \pm 5.44 Ba	15.75 \pm 5.73 ABa
MMP	0 ~ 20 cm	23.97 \pm 0.28 ABa	3.88 \pm 0.02 Ba	20.83 \pm 2.32 Aa	2.36 \pm 0.32 Aa	1.65 \pm 0.14 Aa	3.52 \pm 2.08 ABa	12.52 \pm 0.23 Aa	41.41 \pm 8.04 Ba	8.96 \pm 1.79 Ba
MLP		27.74 \pm 1.73 Aa	4.03 \pm 0.12 Ba	25.64 \pm 4.19 Aa	1.97 \pm 0.18 ABa	1.38 \pm 0.9 Aa	4.1 \pm 1.14 ABa	12.2 \pm 0.36 Ab	31.03 \pm 7.9 Ba	13.22 \pm 3.29 ABb
PSF		15.01 \pm 4.24 Ca	4.58 \pm 0.27 Aa	22.99 \pm 2.83 Aa	1.35 \pm 0.49 Ba	1.3 \pm 0.34 Aa	5.88 \pm 1.13 Aa	12.4 \pm 0.42 Aa	65.7 \pm 9.49 Aa	18.44 \pm 5.94 Aa
CHP		19.14 \pm 1.44 Ca	4.09 \pm 0.09 Bab	16.15 \pm 1.86 Ab	0.8 \pm 0.08 Bb	1.15 \pm 0.48 Aa	1.41 \pm 0.18 Bb	12.64 \pm 0.26 Aa	19.61 \pm 6.9 Ab	20.5 \pm 4.48 Aa
MMP	20 ~ 40 cm	23.15 \pm 0.11 Bb	3.93 \pm 0.05 Ba	16.64 \pm 3.42 Aab	1.45 \pm 0.13 Ab	1.08 \pm 0.16 Aa	2.87 \pm 0.68 Aa	12.35 \pm 0.57 Aa	24.97 \pm 4.06 Ab	11.59 \pm 2.96 Ba
MLP		24.99 \pm 1.08 Aab	4.08 \pm 0.07 Ba	16.88 \pm 5.3 Aab	1.03 \pm 0.2 Bb	0.96 \pm 0.05 Aa	2.02 \pm 0.55 ABb	12.39 \pm 0.21 Aab	22.75 \pm 6.77 Aab	16.63 \pm 5.37 ABab
PSF		17.28 \pm 0.71 Da	4.48 \pm 0.13 Aa	16.59 \pm 2.27 Ab	1 \pm 0.26 Ba	1.02 \pm 0.24 Aa	3.08 \pm 0.73 Ab	12.58 \pm 0.14 Aa	28.81 \pm 3.11 Ab	16.94 \pm 2.62 ABa
CHP		18.89 \pm 1.49 Ba	4.19 \pm 0.04 Ba	11.32 \pm 2.13 Ac	0.54 \pm 0.23 Ab	1.7 \pm 0.86 Aa	1.03 \pm 0.23 Cc	12.65 \pm 0.35 Aa	14.79 \pm 4.31 BCb	23.62 \pm 9.13 Aa
MMP	40 ~ 60 cm	22.59 \pm 0.33 Ac	3.97 \pm 0.09 Ca	13.13 \pm 3.97 Ab	0.8 \pm 0.25 Ac	1.54 \pm 1.09 Aa	1.7 \pm 0.22 Aa	12.5 \pm 0.33 Aa	19.27 \pm 2.48 ABb	17.79 \pm 8.67 Aa
MLP		23.02 \pm 2.56 Ab	4.21 \pm 0.12 Ba	13.94 \pm 4.37 Ab	0.65 \pm 0.14 Ca	0.96 \pm 0.44 Aa	1.27 \pm 0.12 BCb	12.82 \pm 0.23 Aa	10.85 \pm 1.62 Cb	21.28 \pm 2.42 Aa
PSF		17.52 \pm 0.82 Ba	4.47 \pm 0.11 Aa	12.74 \pm 1.18 Ab	0.72 \pm 0.21 Aa	1.57 \pm 1.08 Aa	1.42 \pm 0.21 ABC	13.14 \pm 1.03 Aa	23.91 \pm 0.61 Ab	19.26 \pm 7.39 Aa
林分		**	**	ns	**	ns	**	ns	**	ns
双因素方差分析	土层	ns	ns	**	**	ns	**	ns	**	*
	林分 \times 土层	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns

注: CHP, 红锥林; MMP, 火力楠林; MLP, 米老排林; PSF, 天然次生林。相同土层不同林分间和相同林分不同土层间差异显著分别由不同大、小写字母表示 ($P < 0.05$)。ns 表示 $P \geq 0.05$, * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$ 。

2.2 乡土阔叶人工林与天然次生林土壤细菌群落结构的比较

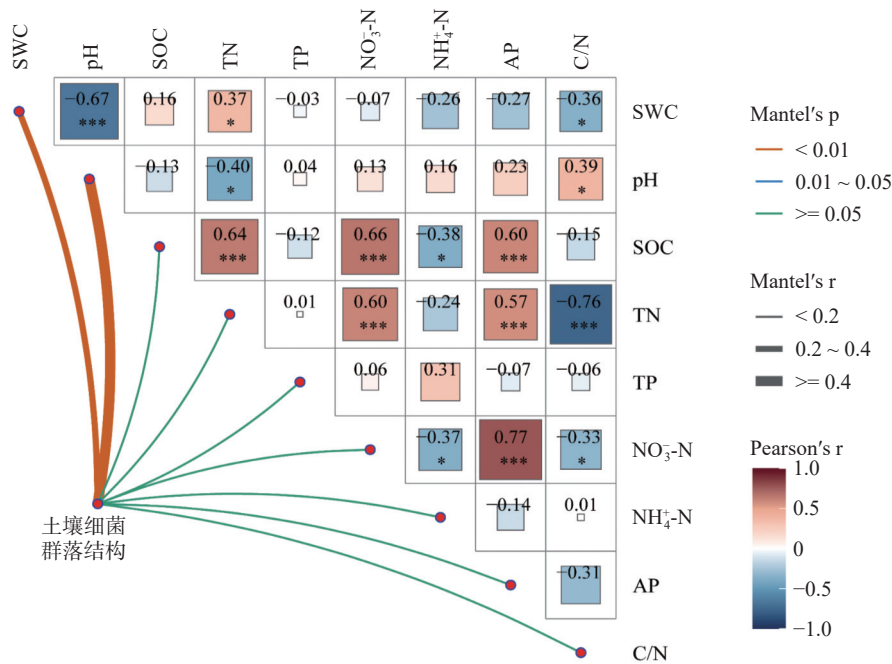
PCoA 结果表明 (图 1), 前两个排序轴共解释了土壤细菌群落结构差异的 39.22% (第一、第二排序轴贡献度分别为 24.98% 和 14.24%)。其中, 红锥林、火力楠林和米老排林的土壤样品细菌群落多在 PCoA1 轴的负半轴上分布, 而天然次生林的土壤样品细菌群落均在 PCoA1 轴的正半轴上分布, 即乡土阔叶人工林与天然次生林的土壤样品细菌群落沿 PCoA1 轴明显分离。PERMANOVA 分析进一步表明, 虽然不同土层间土壤细菌群落结构具有显著差异 ($F_{\text{pseudo}} = 1.779$, $P = 0.016$), 但是不同林分间群落结构差异的显著性更强且对群落结构差异的解释度更高 ($F_{\text{pseudo}} = 6.645$, $P = 0.001$)。可见, 与土层深度相比, 林分类型是解释土壤细菌群落结构变化的主要因素。

此外, 土壤理化性质与细菌群落结构的 Mantel 分析发现 (图 2), pH (mantel's $r = 0.515$, $P =$

0.001) 和 SWC (mantel's $r = 0.276$, $P = 0.008$) 为显著影响土壤细菌群落结构的土壤理化性质因子。

2.3 乡土阔叶人工林与天然次生林土壤细菌群落多样性的变化

双因素方差分析表明, 林分类型和土层深度均显著影响了观测种数、Ace 指数和 Shannon 指数 ($P < 0.05$), 而两者的交互作用对 3 个指数无显著影响 ($P > 0.05$)。由图 3 可得, 在 0 ~ 20 cm 土层, 土壤细菌的观测种数、Ace 指数和 Shannon 指数均是天然次生林显著高于乡土阔叶人工林 ($P < 0.05$)。在 20 ~ 40 cm 土层, 观测种数和 Ace 指数为天然次生林显著高于红锥林和米老排林, Shannon 指数则是 4 个林分间均差异不显著。在 40 ~ 60 cm 土层, 土壤细菌群落的 3 个多样性指数表现为 4 个林分间差异不显著 ($P > 0.05$)。总之, 与乡土阔叶人工林相比, 天然次生林土壤细菌的 3 个多样性指数较高。此外, 除火力楠林的 3 个多样性指数均随土层加深呈先上升后下降的趋势外, 其他林分的多样性指数



注:CHP, 红锥林; MMP, 火力楠林; MLP, 米老排林; PSF, 天然次生林。

图 1 不同林分土壤细菌群落结构基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析(PCoA)

Fig.1 Principal coordinate analysis of soil bacterial community structure in different stands based on Bray-Curtis distance (PCoA)

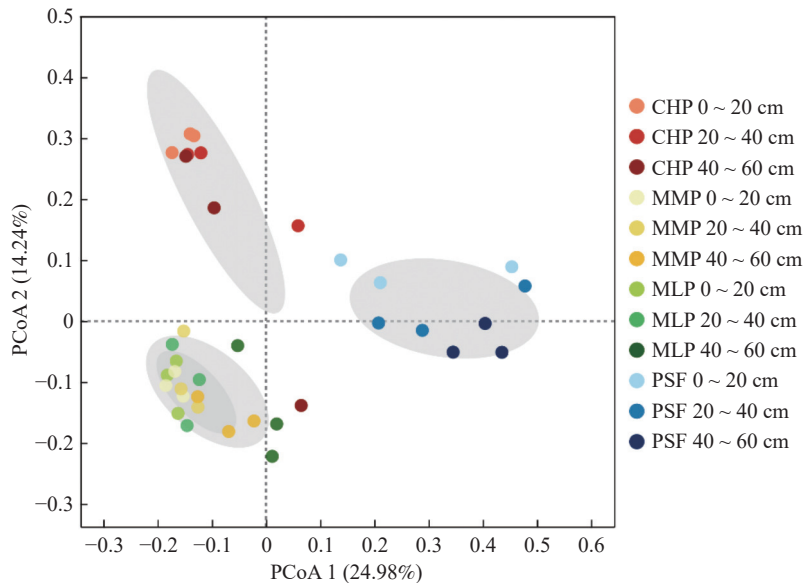


图 2 土壤环境因子与细菌群落结构的 Mantel 分析

Fig.2 Mantel analysis of soil environmental factors and bacterial community structure

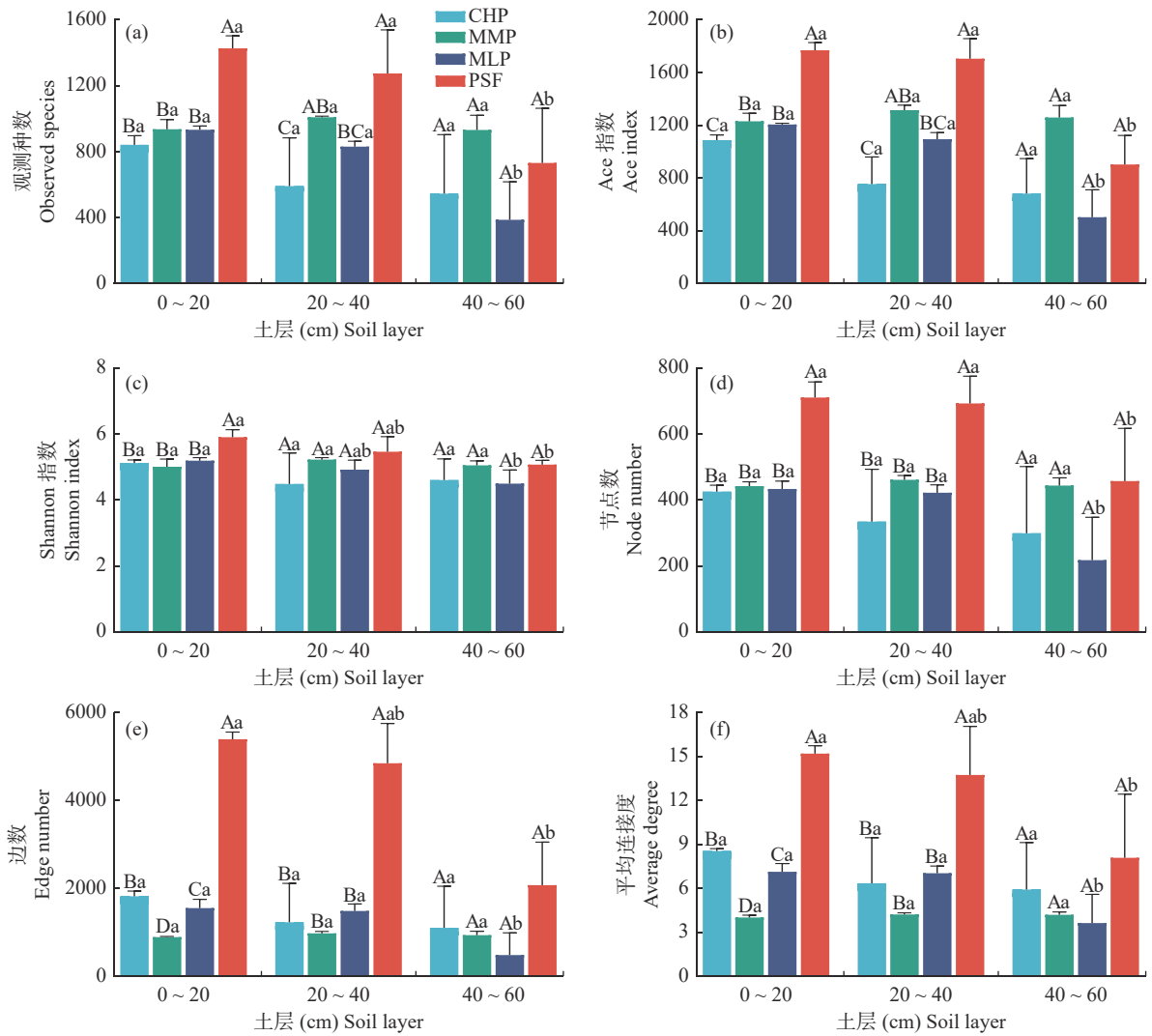
均随土层深度增加而呈下降趋势。

Pearson 相关性分析结果表明 (图 4), 观测种数、Ace 指数和 Shannon 指数都与 SOC、NO₃-N 和 AP 呈显著正相关。此外, Ace 指数还与 TN 呈显著正相关 ($P < 0.05$)。

2.4 乡土阔叶人工林与天然次生林土壤细菌群落分子生态网络结构的差别

不同林分的土壤细菌群落网络表现出不同的共

现模式 (图 5), 所构建的生态网络的节点度分布符合幂律分布 (R^2 均在 0.85 以上), 即大部分 OTU 具有少量的连接数, 而极个别的 OTU 具有非常多的连接数。4 个林分的土壤细菌分子生态网络的小世界系数 σ 均大于 1, 说明与对应的随机网络相比, 本研究所构建的生态网络具有较高的平均聚类系数和较短的平均路径长度, 具有“小世界”网络的拓扑特征, 可以进行后续的分析。



注: CHP, 红锥林; MMP, 火力楠林; MLP, 米老排林; PSF, 天然次生林。相同土层不同林分间和相同林分不同土层间差异显著分别由不同大、小写字母表示 ($P < 0.05$)。

图 3 不同林分不同土层细菌群落多样性(a~c)及网络拓扑参数(d~f)的差异比较

Fig.3 Comparison of bacterial community diversity (a~c) and network topological parameters (d~f) among different soil layers in different stands

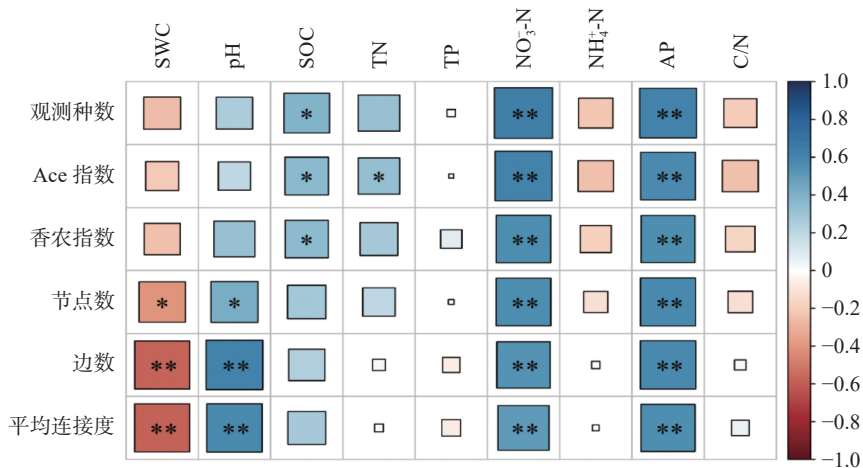
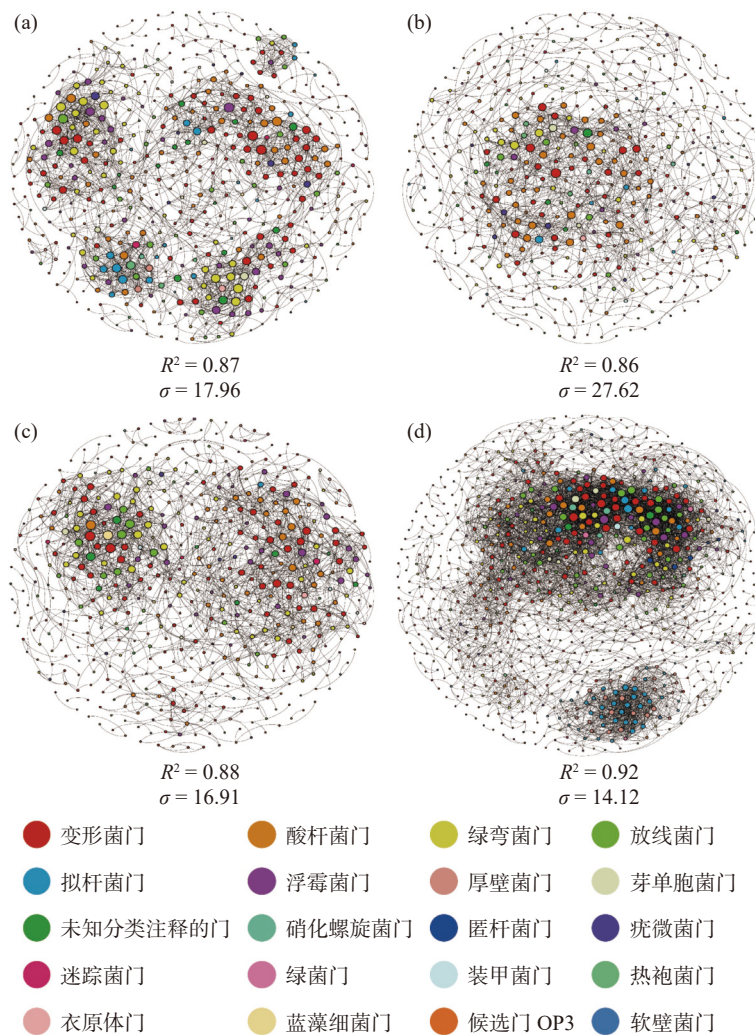


图 4 土壤细菌多样性、网络拓扑参数与土壤环境因子的 Pearson 相关分析

Fig.4 Pearson correlation analysis of Alpha diversity and network topological parameters of soil bacteria with soil environmental factors



注: σ 表示网络的小世界系数; a、b、c、d 分别表示红锥林 (CHP)、火力楠林 (MMP)、米老排林 (MLP) 和天然次生林 (PSF) 的共现网络。

图 5 不同林分土壤细菌群落的共现网络

Fig.5 Co-occurrence patterns of soil bacterial communities in different stands

方差分析分析结果表明 (图 3), 在表层 (0~20 cm) 和 中层 (20~40 cm), 天然次生林的节点数、边数和平均连接度均显著高于乡土阔叶人工林 ($P < 0.05$); 而在底层 (40~60 cm), 节点数、边数和平均连接度虽然表现为 4 个林分间差异不显著, 但天然次生林的节点数、边数和平均连接度仍明显高于乡土阔叶人工林。因而就整个土壤剖面而言, 天然次生林土壤细菌分子生态网络的复杂性均明显高于乡土阔叶人工林, 即天然次生林的土壤细菌网络规模更大, 物种间的关系更加复杂。除火力楠林外, 其他 3 个林分土壤细菌的网络复杂性均随土层加深而下降。Pearson 相关性分析发现 (图 4), 4 个研究林分土壤细菌群落分子生态网络的节点数、边数和平均连接度与土壤含水量呈显著负相关, 而与土壤 pH、 NO_3^- -N 和速效磷显著正相关关系 ($P <$

0.05)。

3 讨论

3.1 不同林分类型对土壤细菌群落结构的影响

在森林生态系统中, 土壤细菌群落结构与树木种类密切相关^[24]。树种可以通过凋落物的数量和质量以及根系分泌物的化学特性等影响土壤细菌群落可利用的资源, 来驱动土壤微生物群落结构的变化^[25-26]。Qiu 等^[27]对华北方干生态修复区不同造林方式 (灌木林、针叶林、阔叶林和针阔混交林) 土壤细菌群落研究发现, 土壤 pH 是解释造林后土壤细菌群落结构变化的最佳指标; Song 等^[28]对大兴安岭不同森林类型土壤细菌群落研究发现, 土壤 pH 可以很好地解释土壤细菌群落结构的变化。土壤 pH 普遍地被认为是土壤细菌群落结构的关键驱动力, 其原因

可能在于土壤细菌的生长和繁殖会受到 pH 的限制^[29], 而不同种类的细菌都有一个最适 pH 值, pH 值的微小变化都可能对不同的细菌类群产生影响^[30]。同时, 土壤 pH 还可以通过调控土壤细菌对土壤营养物质的利用效率或细菌群落间的相互作用关系等^[31], 从而影响土壤细菌群落结构的变化^[32-33]。因此, 本研究发发现天然次生林土壤细菌群落结构迥异于乡土阔叶人工林, 主要是因为天然次生林各土层的 pH 均显著高于乡土阔叶人工林。此外, 本研究还发现土壤含水量同样与森林土壤细菌群落结构显著相关。Qu 等^[34]对尾巨桉 (*Eucalyptus urophylla* × *E. grandis*)、赤桉 (*E. camaldulensis*) 和粗皮桉 (*E. pellita*) 等不同树种的桉树人工林土壤细菌群落结构研究发现, 土壤含水量对土壤细菌群落结构有着显著影响; Wang 等^[35]揭示土壤含水量是影响常绿阔叶林、桉树纯林和桉阔混交林土壤细菌群落结构差异的主要环境因子之一。显然, 本研究结果与已有研究结论一致。

3.2 不同林分类型对土壤细菌 Alpha 多样性的影响

微生物类群在底物偏好和养分获取策略上存在差异^[36], 这使得树种介导的土壤养分的变化在很大程度上可以决定森林土壤微生物群落的多样性^[37-38]。一般来说, 与单一树种人工林相比, 多树种混交的天然次生林拥有较高的凋落物产量和质量^[39]; 当凋落物分解后, 天然次生林的土壤养分含量会更高, 可以满足土壤细菌正常生长和代谢活动的需要, 从而支持更多样化的细菌群落^[40-41]。本研究发发现, 土壤 NO_3^- -N 和速效磷是导致天然次生林土壤细菌多样性高于乡土树种人工林的主要因素。土壤氮素是土壤细菌重要的能量和营养来源, 而作为土壤中氮素的有效成分之一, NO_3^- -N 的丰缺程度能有效表征土壤氮素的供应状况。已有大量研究发发现, 细菌群落多样性的变化受到 NO_3^- -N 的显著影响。如 Liu 等^[42]研究了黄土高原退耕还林后不同树种造林对土壤细菌群落的影响, 发发现土壤细菌多样性与硝态氮含量密切相关; 梁艳等^[43]发发现 NO_3^- -N 在不同林分上的差异可以解释红锥林土壤细菌群落结构显著区别于马尾松林和混交林。磷作为构成核酸、ATP 和细胞膜磷脂等生命物质的关键组分, 也是土壤细菌生命活动中不可缺少的元素^[44]。然而亚热带森林以酸性红壤为主, 大部分磷很容易被铁和铝的氧化物固定, 使得土壤中的速效磷含量极低^[45], 从而导致土壤细菌繁殖受到速效磷的限制, 这可能解释了我们发发现的土壤细菌多样性与土壤速效磷呈显著正相关的现象。

3.3 不同林分类型对土壤细菌分子生态网络结构的影响

土壤细菌种类繁多, 通过各种相互作用关系如合作、竞争或拮抗等形成生态网络, 其网络复杂性的变化与生态系统的功能和服务密切相关^[6]。研究不同细菌类群间的相互作用关系对于预测生态系统功能具有重要意义^[3]。Pearson 相关分析表明, 本研究林分土壤细菌生态网络节点数、边数和平均连接度均与土壤 NO_3^- -N、速效磷显著正相关 ($P < 0.05$), 而天然次生林的土壤硝态氮和速效磷均高于乡土阔叶人工林, 可见在氮、磷等养分含量更高的土壤中, 土壤细菌网络的规模更大, 物种间的相互作用关系更加复杂。Xue 等^[46]研究发发现集约化的森林人工林管理措施会引起土壤养分的改变, 从而导致土壤细菌生态网络的复杂性呈下降趋势; Guo 等^[21]揭示土壤肥力的增加创造了更多的资源生态位, 支持微生物群落之间大量的密切相互作用, 从而导致土壤微生物群落网络更加紧密与复杂; Hu 等^[47]研究发表明在热带低地雨林次生演替过程中, 土壤细菌群落的网络复杂性随着雨林土壤养分含量的增加而增加。上述研究均说明了资源的可用性是生态网络结构的重要驱动因素, 这与本文研究结果表现出相似性。此外, 我们还发发现本研究林分土壤细菌分子生态网络的复杂性与土壤含水量呈显著负相关, 这可能是因为较低的土壤含水量会限制养分的扩散^[48], 从而减少了养分的空间有效性。土壤养分较低的空间有效性会促使细菌需要通过竞争或合作的方式争取资源, 由此增加了细菌间的联系, 使得网络更为复杂。而土壤 pH 对土壤细菌利用资源的影响^[49], 也解释了我们发发现的土壤细菌网络复杂性同样与其密切相关的现象。

森林经营与管理的总体目标是维持生态系统功能和服务, 而土壤微生物群落多样性及微生物间复杂互作关系对驱动生态系统多功能性具有关键作用^[6]。探讨土壤细菌群落结构、Alpha 多样性和分子生态网络结构对天然次生林和乡土阔叶人工林的响应, 可以为亚热带人工林近自然化改造来提升地下生物多样性和生态系统功能的森林经营与管理策略提供一定的科学依据。此外, Shi 等^[50]研究揭示天然林恢复在促进生态系统多功能性方面发挥着关键作用, 其中细菌多样性对此的贡献最大; Wang 等^[51]研究发发现与人工造林相比, 天然恢复条件下较高的网络复杂性对维持由土壤细菌调节的生态系统功能具

有较强的正向影响。上述研究均说明了拥有较高的土壤细菌多样性和网络复杂性的天然次生林对于支持生态系统功能和服务的重要性。因此,为实现我国森林质量的精准提升,除了对现有人工林进行近自然化改造,还应加强对包括次生林在内的物种丰富的天然林的保护和生态恢复。

4 结论

林分类型显著影响土壤细菌群落结构、Alpha 多样性和分子生态网络结构。物种丰富的天然次生林比物种贫乏的乡土阔叶人工纯林表现出更高的土壤细菌 Alpha 多样性和网络复杂性。土壤细菌群落不同林分间的差异主要是由土壤 pH、土壤含水量、NO₃⁻-N 和速效磷引起的。综上,基于土壤细菌群落结构和多样性的视角,在保护好现有天然林、天然次生林的同时,可以根据天然次生林的特点对现有人工林进行优化和改造,使其导向多阔叶树种混交林,以提高该地区人工林生态系统功能。而未来的研究可以探索不同林分类型土壤真菌群落结构和多样性的变化,以期更全面、深入地了解亚热带地区土壤微生物群落对不同林分的响应。

参考文献:

- [1] Hardoim P R, van Overbeek L S, Berg G, et al. The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2015, 79(3): 293 – 320.
- [2] Heiko N, Martin E, Silja B, et al. Identification and characterization of novel cellulolytic and hemicellulolytic genes and enzymes derived from German grassland soil metagenomes[J]. *Biotechnology Letters*, 2012, 34(4): 663 – 675.
- [3] Barberán A, Bates S T, Casamayor E O, et al. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities[J]. *Isme Journal*, 2012, 6(2): 343 – 351.
- [4] Nelson M B, Martiny A C, Martiny J B H. Global biogeography of microbial nitrogen-cycling traits in soil[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(29): 8033 – 8040.
- [5] Hobara S, Osono T, Hirose D, et al. The roles of microorganisms in litter decomposition and soil formation[J]. *Biogeochemistry*, 2014, 118(1-3): 471 – 486.
- [6] Wagg C, Schlaeppi K, Banerjee S, et al. Fungal-bacterial diversity and microbiome complexity predict ecosystem functioning[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 4841.
- [7] You Y M, Xu H C, Wu X P, et al. Native broadleaf tree species stimulate topsoil nutrient transformation by changing microbial community composition and physiological function, but not biomass in subtropical plantations with low P status[J]. *Forest Ecology and Management*, 2020, 477: 118491.
- [8] Ming A G, Yang Y J, Liu S R, et al. A Decade of Close-to-Nature Transformation Alters Species Composition and Increases Plant Community Diversity in Two Coniferous Plantations[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 1141.
- [9] 刘世荣, 杨予静, 王 晖. 中国人工林经营发展战略与对策: 从追求木材产量的单一目标经营转向提升生态系统服务质量和效益的多目标经营 [J]. *生态学报*, 2018, 38(1): 1 – 10.
- [10] Su X P, Li S J, Wan X H, et al. Understory vegetation dynamics of Chinese fir plantations and natural secondary forests in subtropical China[J]. *Forest Ecology and Management*, 2021, 483: 118750.
- [11] Yuan Z X, Jin X M, Xiao W Y, et al. Comparing soil organic carbon stock and fractions under natural secondary forest and *Pinus massoniana* plantation in subtropical China[J]. *Catena*, 2022, 212: 106092.
- [12] Wu X N, Ma X D, Hu L Y, et al. Influence of Natural and Man-Made Forests on Community Assembly and Species, Functional, and Soil Microbial Diversity[J]. *Forests*, 2023, 14(5): 888.
- [13] 王玉凤, 席守鸿, 谭 玲, 等. 亚热带马尾松-红锥混交林与其纯林对土壤微生物生物量碳和氮的影响比较 [J]. *西部林业科学*, 2022, 51(2): 93 – 99 + 105.
- [14] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析 (第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [16] 彭 雯, 谭 玲, 明安刚, 等. 亚热带典型人工纯林土壤剖面细菌群落组成差异分析 [J]. *土壤通报*, 2018, 49(6): 1361 – 1369.
- [17] Quince C, Lanzen A, Davenport R J, et al. Removing Noise From Pyrosequenced Amplicons[J]. *BMC bioinformatics*, 2011, 12: 38.
- [18] Ma B, Wang H Z, Dsouza M, et al. Geographic patterns of co-occurrence network topological features for soil microbiota at continental scale in eastern China[J]. *Isme Journal*, 2016, 10(8): 1891 – 1901.
- [19] 石文莉, 蒋如东, 马天海, 等. 太湖不同营养水平湖区沉积环境微生物分子生态网络特征及其环境响应分析 [J]. *南京大学学报 (自然科学)*, 2018, 54(5): 1045 – 1056.
- [20] Qin L, Wang Y F, Ming A A, et al. Molecular Ecological Network Structure and Potential Function of the Bacterial Community in the Soil Profile under Indigenous Tree Plantations in Subtropical China[J]. *Forests*, 2023, 14(4): 803.
- [21] Guo J J, Ling N, Chen Z J, et al. Soil fungal assemblage complexity is dependent on soil fertility and dominated by deterministic processes[J]. *New Phytologist*, 2020, 226(1): 232 – 243.
- [22] Chao A, Yang M C K. Stopping rules and estimation for recapture debugging with unequal failure rates[J]. *Biometrika*, 1993, 80(1): 193 – 201.
- [23] Shannon C E. A mathematical theory of communication[J]. *The Bell System Technical Journal*, 1948, 27(4): 623 – 656.
- [24] Cui J Y, Yuan P, Zhang Q F, et al. Correlations between dominant vegetation type and composition and diversity of soil bacterial communities in a subtropical forest[J]. *Soil Science Society of*

- America Journal*, 2022, 86(5): 1123 – 1137.
- [25] Lladó S, López-Mondéjar R, Baldrian P. Drivers of microbial community structure in forest soils[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(10): 4331 – 4338.
- [26] Lladó S, Lopez-Mondejar R, Baldrian P. Forest Soil Bacteria: Diversity, Involvement in Ecosystem Processes, and Response to Global Change[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2017, 81(2): e00063.
- [27] Qiu Z L, Shi C, Zhao M Y, et al. Improving Effects of Afforestation with Different Forest Types on Soil Nutrients and Bacterial Community in Barren Hills of North China[J]. *Sustainability*, 2022, 14(3): 1202.
- [28] Song D D, Ren L, Li X, et al. Soil Bacterial Diversity and Composition of Different Forest Types in Greater Xing'an Mountains, China[J]. *Applied Ecology and Environmental Research*, 2021, 19(3): 1983 – 1997.
- [29] Rousk J, Bååth E, Brookes P C, et al. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil[J]. *Isme Journal*, 2010, 4(10): 1340 – 1351.
- [30] Xue L, Ren H D, Li S, et al. Soil Bacterial Community Structure and Co-occurrence Pattern during Vegetation Restoration in Karst Rocky Desertification Area[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2377.
- [31] Cheng J M, Zhao M X, Cong J, et al. Soil pH exerts stronger impacts than vegetation type and plant diversity on soil bacterial community composition in subtropical broad-leaved forests[J]. *Plant and Soil*, 2020, 450(1-2): 273 – 286.
- [32] Peng X Y, Liu J X, Duan X W, et al. Key Soil Physicochemical Properties Regulating Microbial Community Structure under Vegetation Restoration in a Karst Region of China[J]. *Ecosystem Health and Sustainability*, 2023, 9(1): 0031.
- [33] Liu J L, Wang Q Q, Ku Y L, et al. Precipitation and soil pH drive the soil microbial spatial patterns in the Robinia pseudoacacia forests at the regional scale[J]. *Catena*, 2022, 212: 106120.
- [34] Qu Z L, Liu B, Ma Y, et al. Differences in bacterial community structure and potential functions among Eucalyptus plantations with different ages and species of trees[J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 149: 103515.
- [35] Wang Z, Xu Y X, He C, et al. Impact of native tree species introduction on soil nutrient and bacterial community in Eucalyptus plantations[J]. *European Journal of Forest Research*, 2023, 142(6): 1369 – 1383.
- [36] Lu J Z, Scheu S. Response of soil microbial communities to mixed beech-conifer forests varies with site conditions[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2021, 155: 108155.
- [37] Li W T, Liu Q H, Xie L L, et al. Interspecific plant-plant interactions increase the soil microbial network stability, shift keystone microbial taxa, and enhance their functions in mixed stands[J]. *Forest Ecology and Management*, 2023, 533: 120851.
- [38] Kang P, Pan Y Q, Yang P, et al. A comparison of microbial composition under three tree ecosystems using the stochastic process and network complexity approaches[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 1018077.
- [39] Zhu X A, Liu W J, Chen H, et al. Effects of forest transition on litterfall, standing litter and related nutrient returns: Implications for forest management in tropical China[J]. *Geoderma*, 2019, 333: 123 – 134.
- [40] Dilly O, Bloem J, Vos A, et al. Bacterial diversity in agricultural soils during litter decomposition[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(1): 468 – 474.
- [41] Zhang W P, Fornara D, Yang H, et al. Plant litter strengthens positive biodiversity-ecosystem functioning relationships over time[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2023, 38(5): 473 – 484.
- [42] Liu J L, Dang P, Gao Y, et al. Effects of tree species and soil properties on the composition and diversity of the soil bacterial community following afforestation[J]. *Forest Ecology and Management*, 2018, 427: 342 – 349.
- [43] 梁 艳, 明安刚, 何友均, 等. 南亚热带马尾松-红椎混交林及其纯林土壤细菌群落结构与功能 [J]. *应用生态学报*, 2021, 32(3): 878 – 886.
- [44] Lei J J, Cao Y X, Wang J, et al. Soil Nutrients, Enzyme Activities, and Microbial Communities along a Chronosequence of Chinese Fir Plantations in Subtropical China[J]. *Plants*, 2023, 12(10): 1931.
- [45] 方 晰, 陈金磊, 王留芳, 等. 亚热带森林土壤磷有效性及其影响因素的研究进展 [J]. *中南林业科技大学学报*, 2018, 38(12): 1 – 12.
- [46] Xue L, Ren H D, Brodribb T J, et al. Long term effects of management practice intensification on soil microbial community structure and co-occurrence network in a non-timber plantation[J]. *Forest Ecology and Management*, 2020, 459: 117805.
- [47] Hu X, Shu Q, Guo W, et al. Secondary Succession Altered the Diversity and Co-Occurrence Networks of the Soil Bacterial Communities in Tropical Lowland Rainforests[J]. *Plants*, 2022, 11(10): 1344.
- [48] Manzoni S, Schaeffer S M, Katul G, et al. A theoretical analysis of microbial eco-physiological and diffusion limitations to carbon cycling in drying soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 73: 69 – 83.
- [49] 夏 开, 邓鹏飞, 马锐豪, 等. 马尾松次生林转换为湿地松和杉木林对土壤细菌群落结构和多样性的影响 [J]. *生态环境学报*, 2022, 31(3): 460 – 469.
- [50] Shi X Z, Wang J Q, Lucas-Borja, M E, et al. Microbial diversity regulates ecosystem multifunctionality during natural secondary succession[J]. *Journal of Applied Ecology*, 2021, 58(12): 2833 – 2842.
- [51] Wang X, Wang Z C, Zhang Z J, et al. Natural restoration exhibits better soil bacterial network complexity and stability than artificial restoration on the Loess Plateau, China[J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 346: 119052.

Dissimilarity of Soil Bacterial Community Structure and Diversity between Typical Native Broadleaf Plantation and Primary Secondary Forest in South Subtropical China

LIANG Ze-li, QIN Jia-qi, HE Jiang, LIU Han-ying, WANG Ting, QIN Lin*

(College of Forestry, Guangxi University, Guangxi Key Laboratory of Forest Ecology and Conservation, Nanning 530004, China)

Abstract: [Objective] Differences in soil bacterial community characteristics between native broadleaf plantation and primary secondary forest and their regulatory soil environmental factors were studied in order to provide a scientific basis of soil microbiology for the management strategy to optimize and transform existing plantations into near-natural forests. [Method] Three native broadleaf plantations (*Castanopsis hicklii*, *Michelia macclurei* and *Mytilaria laosensis*) and primary secondary forest in the south subtropical China were selected as the objects. High-throughput sequencing and soil physicochemical properties were performed on soil samples from 0 - 20 cm, 20 - 40 cm and 40 - 60 cm of each stand, and the responses of soil bacterial community structure, Alpha diversity and molecular ecological network structure to different stands were investigated. [Result] ① Soil bacterial community structure was significantly different between primary secondary forest and native broadleaf plantation, and primary secondary forest had higher soil bacterial Alpha diversity and network structure complexity than native broadleaf plantation. ② The main factors affecting soil bacterial community structure, Alpha diversity and network structure complexity between native broadleaf plantation and primary secondary forest were soil pH, water content, NO₃⁻-N and available phosphorus. [Conclusion] From the perspective of soil bacterial community structure and diversity, While protecting existing primary forests and primary secondary forests, advocating the construction of mixed plantations with multiple broadleaf species imitating primary secondary forest can enhance soil bacterial diversity and network structure complexity, which will promote the sustainable development of the ecological functions of the artificial forests in the region.

Key words: Soil microorganism; Forest management; Native tree species; Illumina high-throughput sequencing; Molecular ecological network analysis

[责任编辑: 刘轶飞]