

DOI: 10.5846/stxb201912032611

李秋梅, 黎胜杰, 王欣丽, 刘波, 张广娜, 张弛, 高远, 梅鹤平, 王芸. 改变碳输入对沂蒙山区典型次生林土壤微生物碳源代谢功能的影响. 生态学报, 2021, 41(10): 4110-4119.

Li Q M, Li S J, Wang X L, Liu B, Zhang G N, Zhang C, Gao Y, Mei H P, Wang Y. Influences of changing carbon inputs on soil microbial carbon metabolism in natural secondary forests in Yimeng mountainous area. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(10): 4110-4119.

改变碳输入对沂蒙山区典型次生林土壤微生物碳源代谢功能的影响

李秋梅¹, 黎胜杰¹, 王欣丽¹, 刘波¹, 张广娜², 张弛¹, 高远¹, 梅鹤平³, 王芸^{1,*}

1 山东省水土保持与环境保育重点实验室, 临沂大学资源环境学院, 临沂 276000

2 临沂大学农林科学学院, 临沂 276000

3 山东省费县塔山国有林场, 临沂 273421

摘要:凋落物和根系向土壤的碳输入是森林生态系统的关键过程, 输入量及组分的变化直接影响森林土壤碳汇功能和生产力。在沂蒙山区栎类天然次生林中, 开展添加/去除凋落物及去除根系的定位控制试验。于控制试验开展 21 个月后, 采用 Biolog Eco 微平板培养法, 研究凋落物和根系对土壤微生物碳源代谢功能的影响。结果表明, 凋落物倍增处理增加了土壤微生物碳源代谢功能, 增加了对糖类和胺类的代谢能力。去除凋落物处理、去除根系处理和无输入处理都降低了土壤微生物碳源代谢功能。去除凋落物处理降低土壤微生物碳源代谢功能的幅度大于去除根系处理, 表明当前条件下凋落物对土壤微生物碳源代谢功能的影响大于根系, 但如果抛除掉去除根系处理中残留根系的影响, 凋落物和根系对土壤微生物碳源代谢功能的相对大小可能会发生变化。土壤有机碳含量、铵态氮含量显著影响微生物碳源代谢多样性 ($P < 0.05$), 并与碳源代谢功能正相关。凋落物倍增处理通过增加土壤铵态氮和有机碳含量, 增加微生物碳源代谢功能, 去除凋落物处理和无输入处理通过降低土壤铵态氮和有机碳含量, 降低微生物碳源代谢功能。结果深化了碳输入途径(地上凋落物与地下根系)和数量(凋落物倍增、凋落物去除与对照)对温带栎类天然次生林土壤碳代谢过程的认识。

关键词:土壤微生物; 碳源代谢功能; 凋落物; 根系; 天然次生林

Influences of changing carbon inputs on soil microbial carbon metabolism in natural secondary forests in Yimeng mountainous area

LI Qiumei¹, LI Shengjie¹, WANG Xinli¹, LIU Bo¹, ZHANG Guangna², ZHANG Chi¹, GAO Yuan¹, MEI Heping³, WANG Yun^{1,*}

1 Shandong Provincial Key Laboratory of Water and Soil Conservation and Environmental Protection, College of Resources and Environment, Linyi University, Linyi 276000, China

2 College of Agriculture and Forestry Science, Linyi University, Linyi 276000, China

3 Tashan Forest Farm in Fei County of Shandong Province, Linyi 273421, China

Abstract: Carbon inputs from litter and roots to soil are key processes for nutrient cycling in forest ecosystem. Changes in carbon input pathways and quantities can directly affect the carbon sources to soil microorganisms and soil carbon sink function. However, there is debate regarding the effects of the carbon inputs on soil microbial carbon metabolism. In this

基金项目: 国家自然科学基金项目(32071630, 31770638); 山东省泰山学者项目(ts201712071)

收稿日期: 2019-12-03; 网络出版日期: 2021-03-27

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wangyunsd@163.com

study, a field experiment involving the control of litter input pathways (aboveground vs. underground) and quantities (doubled or removed vs. control), implemented through the addition or removal of litter and the removal of roots, was conducted in a natural secondary oak forest (35°10'—36°00' N, 117°35'—118°20' E) in the Yimeng mountainous area, Shandong Province, China. The experiment commenced in November 2014 and had a randomized block design with five different treatments (control, litter doubling, litter removal, root removal, and no detritus inputs by removing both litter and root) and five replicates for each treatment. On August 13th, 2016, the soils were sampled at a depth of 0—10 cm to analyze soil microbial carbon metabolism. Soil microbial carbon metabolism was based on community-level physiological profiles (CLPPs) using Biolog Eco MicroPlate cultivation method. Each soil sample (10^{-3} soil dilution) was inoculated 3 times, and cultivated at 25°C for 240 h. The plates were scanned at 590 nm every 12 h. The litter doubling treatment increased the soil microbial carbon metabolism function, and increased the microbial utilization of sugars and amines. In contrast, the litter removal, root removal, and no input treatments reduced microbial metabolism of carbon sources, and decreased the microbial ability to utilize sugars, amino acids, carboxylic acids, amines, and polymers. Compared with root removal treatment, litter removal treatment resulted in a greater decrease in the microbial metabolism of carbon, indicating that litter exerted a greater influence on the carbon metabolism in this study. However, when considering the effects of trenched roots, the relative effects of litter and root might change. The redundancy analysis was used to analyze the relationship between soil microbial carbon metabolism and soil physiochemical characteristics including pH, contents of moisture, organic carbon, total nitrogen, ammonium, nitrate, and available phosphorus. The redundancy analysis revealed that the soil organic carbon and ammonium nitrogen contents significantly influenced the community-level physiological profiles of soil microbes ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that soil organic carbon and ammonium nitrogen contents were positively correlated with carbon metabolism function. The ordination diagram for the redundancy analysis of the microbial community level physiological profiles and soil physicochemical properties indicated that the litter doubling treatment was distributed in the directions of increasing ammonium nitrogen and organic carbon contents, whereas the litter removal and no input treatments were located in the opposite direction. This indicated that litter doubling treatment increased the soil microbial carbon metabolism function by increasing the contents of ammonium nitrogen and organic carbon, whereas litter removal and no input treatments reduced the carbon metabolic function by decreasing the contents of ammonium nitrogen and organic carbon. The results of the study further deepen our understanding of the influences of carbon input pathways (aboveground litter vs. underground roots) and quantities (litter doubling or litter removal vs. control) on soil carbon metabolism processes in natural secondary forests in temperate zones.

Key Words: soil microorganisms; carbon metabolic function; litter; root; natural secondary forest

凋落物和根系向土壤中的有机物输入是森林生态系统营养物质循环的两个途径,输入有机物的质量和数量可影响土壤碳汇功能和生产力,也影响土壤微生物的碳源供给。土壤微生物在土壤肥力维持和有机物分解中起重要作用。高质量(高营养、易分解)的有机物可被土壤微生物高效利用^[1],而低质量的有机物可能会导致土壤营养匮乏从而抑制微生物代谢^[2]。有机物的数量和质量影响土壤微生物活性^[3],进而导致不同碳转化过程的差异。

凋落物输入途径和数量对土壤碳代谢功能的影响存在争议。尽管有研究表明,添加凋落物抑制美国 Andrews 温带针叶林土壤有机碳分解^[4],但一般而言,添加地上凋落物刺激土壤呼吸。尽管有研究表明,去除凋落物增加温带阔叶林土壤微生物量碳^[5],但大多研究表明去除凋落物降低土壤呼吸^[6],降低土壤微生物碳源代谢功能^[2]。限制凋落物碳输入(去除凋落物和无输入)显著减少土壤有机碳含量^[7],降低土壤呼吸^[8]。

根系所产生的根际沉积和根凋落物为土壤微生物的重要碳源^[9]。根系输入一方面通过土壤微生物群落更有效地合成与矿物相关的土壤有机碳^[9],另一方面根际引发效应加速土壤有机质的分解^[10]。去除根系降

低土壤有机碳含量^[7]。根系对细菌和真菌的影响不同,真菌更喜欢来源于根系的碳,而不是微环境中的碳;细菌只有在无可替代碳源的情况下,才加强对源于根的碳利用^[11]。去除根系降低阔叶林和针叶林土壤微生物生物量^[12],降低温带针叶林土壤有机碳分解^[4]。去除根系降低栓皮栎(*Quercus variabilis*)人工林和黑松(*Pinus thunbergii*)人工林土壤微生物的碳源代谢功能^[2]。去除根系降低土壤有机磷含量^[13],进而降低微生物碳代谢。总之,去除根系会降低底物可利用性和有机碳的激发效应,导致土壤微生物群落结构和功能变化,但对微生物碳代谢功能的影响还存在争议,并受环境条件的影响。

综上所述,凋落物和根系对土壤微生物碳代谢功能的影响随气候带(如亚热带和温带)、植被类型(如针叶林和阔叶林)改变而变化,对土壤微生物碳源代谢功能的影响还存在争议^[2]。鉴于凋落物和根系主要成分为碳,简称改变凋落物和根系输入为改变碳输入。

沂蒙山区位于温带的鲁中南低山丘陵区,其主要森林类型之一为栎类次生林。本文期望揭示改变碳输入途径(地上与地下)、数量(凋落物倍增、凋落物去除与对照)对土壤微生物碳源代谢功能的定量影响,深化对温带天然次生林土壤有机碳代谢过程的认识。

1 材料与方法

1.1 样地概况与样品采集

试验在山东省费县塔山国家森林公园(35°10′—36°00′ N, 117°35′—118°20′ E)开展。当地年均温 13℃, 平均年降水量 700 mm,土壤为棕壤。选取土地利用历史相似、林龄约为 40 a 的栎类天然次生林(属针阔混交林),于 2014 年 11 月开展凋落物添加/去除和根系去除定位控制试验。试验采取随机区组试验设计,因素为改变碳输入,共设置 5 个处理,包括对照(不进行任何处理)、凋落物倍增、去除凋落物、去除根系和无输入处理(去除凋落物和根系),5 次重复。随机选取 5 个样地,每个样地上选取一个 20 m × 30 m 的样方。在每个样方上设置 5 个 1.5 m × 1.5 m 的小样方,每个小样方随机设置一个处理(表 1),所有选取的小样方内均没有乔木。凋落物添加/去除处理每月开展一次。根系去除处理每月开展一次,其中,夏季每月两次。

表 1 凋落物添加/去除和根系去除试验描述
Table 1 Description of detritus input and removal treatments

处理 Treatment	方法 Method
对照 Control	不进行任何处理
凋落物倍增处理 Litter doubling treatment	收集去除凋落物处理的凋落物,均匀地铺撒到样地上
去除凋落物处理 Litter removal treatment	在高于地面 50 cm 处用孔径为 1 mm 的纱网搭建帐篷截住地上凋落物,并且移除地面矿物质土上面覆盖的凋落物
去除根系处理 Root removal treatment	沿小样方四周向地面下挖 50 cm 深的壕,插入聚乙烯板后再回填,以阻断小样方外根系的进入。每月拔除样方内灌木和草本,夏季每月两次
无输入处理 No detritus inputs treatment	按照以上方法,既去除凋落物又去除根系

于定位实验开展 21 个月后,即于 2016 年 8 月 13 日取土样,取样深度 0—10 cm。在每个小样方取 5 个土钻(分布在样方四个角和中心,直径 3.5 cm)的土,混合为一个土样。共取 25 个土样。土样置于 4℃ 冷藏箱运回实验室。一部分土样用于 4℃ 保存,过 2 mm 筛,分析土壤微生物碳代谢功能;其余土样风干,分析理化性质。

1.2 实验室分析

土壤微生物碳代谢功能采用群落水平代谢图谱法表征,用 Biolog EcoPlate™(Biolog Inc., Hayward, CA, USA)测定^[14]。取相当于 10 g 干土的新鲜土样,加 95 mL 无菌的 0.85% 的 NaCl 溶液振荡 30 min,取稀释 1000 倍的 150 μL 土壤溶液接种至 Biolog Eco 微平板中,每个土样接种到一个微孔板上,即每个土样接种 3 次。然后置于 25℃ 恒温培养箱培养 240 h,每 12 h 于酶标仪(Biotek, Synergy H¹)上读数 1 次,波长为 590 nm。

土壤有机碳含量采用元素分析仪测定 (vario MACRO cube, Elementar, Germany)。土壤含水量采用烘干法。pH 值采用 1:5 的土水比测试^[15]。有效磷含量采用树脂法^[16], 铵态氮、硝态氮含量采用 1:5 的 KCl 溶液提取, 铵态氮采用水杨酸法测试^[15], 硝态氮采用双波长紫外分光光度法测试^[17]。

1.3 统计分析

1.3.1 土壤微生物碳代谢特征

用孔的平均颜色变化率 (Average well color development, AWCD) 来表征土壤微生物碳代谢特征^[18]。AWCD 越高, 碳代谢能力越高。

$$AWCD = \sum_{i=1}^{31} (C_i - r) / n \quad (1)$$

式中, C_i 是 590 nm 处孔的吸光度。R 是对照孔的吸光度。N 是碳源的种类数, 此处为 31。其中负的 $C_i - r$ 设置为 0^[19]。

31 孔的 AWCD 均值随时间 t 的变化, 可用逻辑斯蒂增长方程来拟合^[20]。

$$AWCD_t = \frac{K}{1 + \exp(-R(t - s))} \quad (2)$$

式中, K 是 AWCD 的理论最大值, s 是达到最大值一半的时间, R 是逻辑斯蒂增长曲线的指数斜率^[20]。

由于 96 h 是最接近达到 AWCD 最大值一半时间 ((93±2) h) 的读数时间, 所以 96 h 的吸光度值用来计算土壤微生物的碳代谢丰富度、多样性和后续的冗余分析 (Redundancy analysis, RDA)。

丰富度是在 96 h 吸光度大于 0.25 的碳源个数^[21]。多样性采用 Shannon 多样性指数^[22]。

$$H' = - \sum p_i \ln(p_i) \quad (3)$$

$$p_i = n_i / N \quad (4)$$

式中, n_i 为单个碳源吸光度, N 为 31 种碳源吸光度的和。

根据降解的相对难易程度, 把 Biolog Eco 微平板中的碳源分为六大类。其中, 糖类、羧酸类和氨基酸类碳源归为活性碳; 胺类、聚合物类和其它类碳源归为惰性碳。

1.3.2 方差分析和冗余分析

采用单因素随机区组方差分析改变碳输入对土壤微生物碳源代谢功能的影响, 多重比较采用 Duncan 法。冗余分析 (Redundancy analysis, RDA) 用于分析土壤微生物碳源代谢功能与土壤理化性质之间的关系。因变量为 31 种碳源在 96 h 的吸光度, 自变量为土壤理化性质, 包含 pH、含水量、有机碳含量、全氮含量、铵态氮含量、硝态氮含量、有效磷含量。用 Monto-Carlo (999 次) 检验显著影响土壤微生物碳源代谢的因子。Spearman 相关分析用于分析土壤微生物碳源代谢多样性与土壤因子之间的关系。

2 结果与分析

2.1 改变碳输入对栎类天然次生林土壤理化性质的影响

去除根系处理和无输入处理均显著降低了土壤 pH ($P < 0.05$, 表 2)。凋落物倍增处理显著增加了土壤有机碳、铵态氮和硝态氮含量 ($P < 0.05$, 表 2), 去除凋落物处理、去除根系处理和无输入处理均显著降低了土壤铵态氮含量 ($P < 0.05$); 改变碳输入对土壤含水量、全氮、有效磷含量都没有显著影响 ($P > 0.05$)。

2.2 改变碳输入对栎类天然次生林土壤微生物碳源代谢功能的影响

与对照相比, 凋落物倍增处理增加栎类天然次生林土壤微生物碳源代谢丰富度、碳源代谢多样性和碳源代谢强度 (图 1), 但不显著 ($P > 0.05$)。去除凋落物处理显著降低土壤微生物碳源代谢丰富度和碳源代谢强度 ($P < 0.05$, 图 1)。去除根系处理和无输入处理都没有显著影响土壤微生物碳源代谢功能 ($P > 0.05$)。去除凋落物处理降低土壤微生物碳源代谢功能的幅度大于去除根系处理。

凋落物倍增处理增加了土壤微生物对糖类碳源的代谢丰富度, 去除凋落物处理、去除根系处理和无输入

处理均降低了糖类的代谢丰富度,都不显著($P>0.05$,表3)。无输入处理显著降低了胺类碳源的代谢丰富度($P<0.05$)。其余处理对羧酸类、氨基酸类、聚合物类和其它类碳源代谢丰富度影响都不显著($P>0.05$)。

表 2 改变碳输入对沂蒙山区栎类天然次生林土壤理化性质的影响

Table 2 Influences of changing carbon inputs on the soil physical/chemical characteristics in natural secondary oak forests in Yimeng Mountainous area ($n=5$)

处理 Treatment	含水量 Moisture%	pH	有机碳 SOC/ (mg/g)	总氮 TN/ (mg/g)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/ (μg/g)	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/ (μg/g)	有效磷 Available P/ (μg/g)
CT	14.7±1.1a	5.15±0.03a	25.7±2.0b	2.0±0.2ab	11.86±0.58b	4.98±0.89b	2.01±0.44a
DL	17.5±2.0a	5.13±0.09a	34.3±3.0a	2.5±0.2a	14.69±1.19a	10.34±3.27a	1.67±0.27a
NL	17.8±1.7a	5.26±0.03a	24.9±3.0b	2.1±0.3ab	9.5±0.56c	6.37±2.47ab	1.25±0.08a
NR	17.6±2.1a	4.57±0.1c	27.7±3.0ab	2.1±0.3ab	9.66±0.5c	7.21±1.09ab	1.21±0.13a
NI	14.3±2.4a	4.81±0.03b	23.1±3.0b	1.7±0.2b	7.51±0.25d	7.86±1.92ab	1.98±0.32a

同列不同字母表示差异显著($P<0.05$);表格内数值为均值±标准误;CT:对照,control;DL:凋落物倍增处理,litter doubling treatment;NL:去除凋落物处理,litter removal treatment;NR,去除根系处理,root removal treatment;NI:无输入处理,no detritus inputs treatment;SOC: Soil organic matter;TN: Total nitrogen

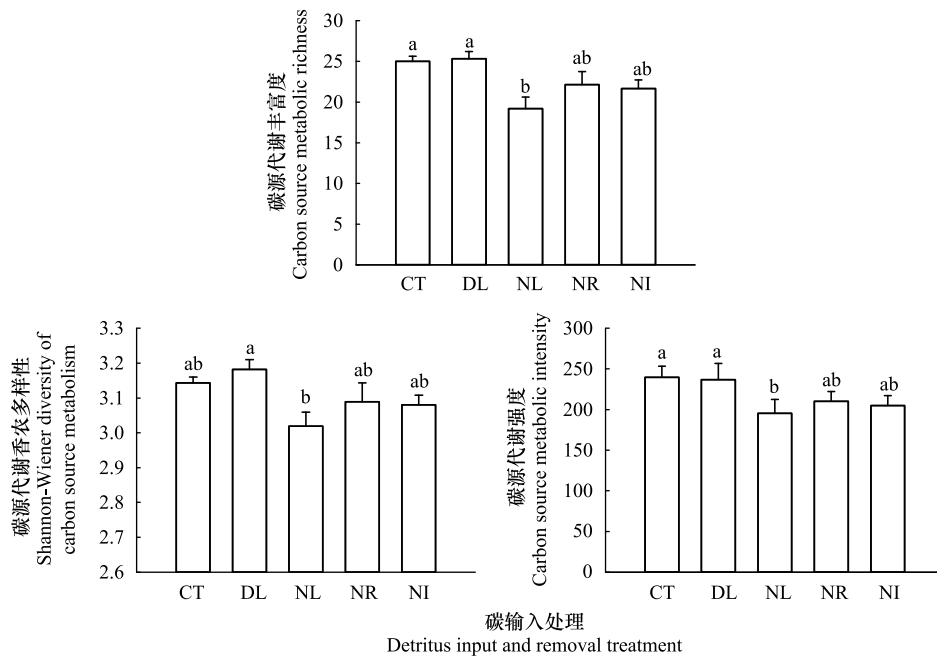


图 1 改变碳输入对土壤微生物碳源代谢多样性的影响

Fig.1 Influences of changing carbon inputs on carbon source metabolic diversity of soil microorganisms ($n=5$)

不同字母表示差异显著($P<0.05$);柱状数值为均值+标准误;CT:对照,control;DL:凋落物倍增处理,litter doubling treatment;NL:去除凋落物处理,litter removal treatment;NR,去除根系处理,root removal treatment;NI:无输入处理,no detritus inputs treatment

表 3 改变碳输入对土壤微生物六大类碳源代谢丰富度的影响

Table 3 Influences of changing carbon inputs on metabolic richness of six groups carbon sources of soil microorganisms ($n=5$)

处理 Treatment	糖类 Sugars	羧酸类 Carboxylic acids	氨基酸 Amino acids	胺类 Amines	聚合物类 Polymers	其它 Others
CT	7.83±0.31ab	5.83±0.31a	4.67±0.33a	1.83±0.17ab	2.83±0.4a	2.00±0.00a
DL	8.5±0.34a	5.83±0.17a	4.33±0.33a	2.00±0.00a	2.67±0.33a	2.00±0.00a
NL	6.5±0.62b	4.17±1.08a	3.83±0.17a	1.33±0.21bc	2.83±0.31a	1.67±0.21a
NR	6.33±0.71b	5.17±0.31a	4.33±0.33a	1.67±0.21ab	2.83±0.4a	1.83±0.17a
NI	6.67±0.61b	4.67±0.42a	4.83±0.31a	1.00±0.26c	2.67±0.33a	1.83±0.17a

凋落物倍增处理轻微增加糖类、羧酸类和胺类的碳源代谢 Shannon 多样性指数 ($P>0.05$,表 4)。在六大类碳源中,只有去除凋落物处理显著降低其它类的碳源代谢 Shannon 多样性指数 ($P<0.05$),其余处理对六大类碳源代谢 Shannon 多样性指数无显著影响 ($P>0.05$)。

表 4 改变碳输入对土壤微生物六大类碳源代谢 Shannon 多样性指数的影响

Table 4 Influences of changes in carbon inputs on metabolic Shannon-Wiener diversity index of six groups carbon sources of soil microorganisms ($n=5$)

处理 Treatment	糖类 Sugars	羧酸类 Carboxylic acids	氨基酸 Amino acids	胺类 Amines	聚合物类 Polymers	其它 Others
CT	1.98±0.03ab	1.75±0.05a	1.44±0.03ab	0.61±0.05ab	1.09±0.05a	0.61±0.02a
DL	2.06±0.04a	1.78±0.03a	1.42±0.03ab	0.67±0.01a	1.07±0.07a	0.61±0.03a
NL	1.9±0.05ab	1.64±0.09a	1.51±0.05a	0.45±0.1ab	1.07±0.07a	0.53±0.03b
NR	1.84±0.11b	1.72±0.04a	1.4±0.04b	0.57±0.05ab	1.04±0.1a	0.61±0.03a
NI	1.88±0.06ab	1.66±0.05a	1.5±0.04a	0.39±0.1b	1.04±0.05a	0.59±0.02ab

与对照相比,去除凋落物处理、去除根系处理和无输入处理都显著降低糖类的代谢强度 ($P<0.05$,表 5)。去除凋落物处理显著降低羧酸类和氨基酸类的碳源代谢强度 ($P<0.05$);其余处理对糖类、聚合物类和及其它类的碳源代谢强度无显著影响 ($P>0.05$)。

表 5 改变碳输入对土壤微生物六大类碳源代谢强度的影响

Table 5 Influences of changes in carbon inputs on metabolic intensity of six groups carbon sources of soil microorganisms ($n=5$)

处理 Treatment	糖类 Sugars	羧酸 Carboxylic acids	氨基酸 Amino acids	胺类 Amines	聚合物类 Polymers	其它 Others
CT	330±20a	223±9a	290±25a	249±26ab	302±18a	183±16a
DL	319±27ab	218±23a	285±27a	265±27a	307±24a	186±24a
NL	227±29c	165±30b	219±46b	187±37b	241±33a	167±22a
NR	251±20bc	223±12a	270±12ab	229±21ab	287±19a	157±15a
NI	255±20bc	203±15ab	279±17ab	198±30ab	279±10a	164±15a

2.3 改变碳输入对栎类天然次生林土壤微生物碳源代谢功能的影响途径

土壤有机碳和铵态氮含量显著影响不同凋落物输入途径和数量变化条件下土壤微生物碳源代谢多样性,两者解释了土壤微生物碳源代谢多样性变异的 27.4% ($F=5.06,P=0.001$,图 2),其中轴 1 解释了 24.0%的变异 ($F=8.45,P=0.001$),轴 2 解释了 3.4%的变异 ($F=1.79,P=0.086$)。土壤微生物的碳源代谢丰富度、多样性、强度与土壤有机碳和铵态氮含量都显著正相关 ($P<0.05$,表 6)。凋落物倍增处理在铵态氮和有机碳含量增加的方向。去除凋落物处理、无输入处理都位于铵态氮和有机碳含量减少的方向(图 2)。这表明凋落物倍增处理通过增加土壤铵态氮和有机碳含量(表 2),增加土壤微生物碳源代谢功能,去除凋落物和无输入处理通过降低土壤铵态氮和有机碳含量(表 2),降低土壤微生物碳源代谢功能。

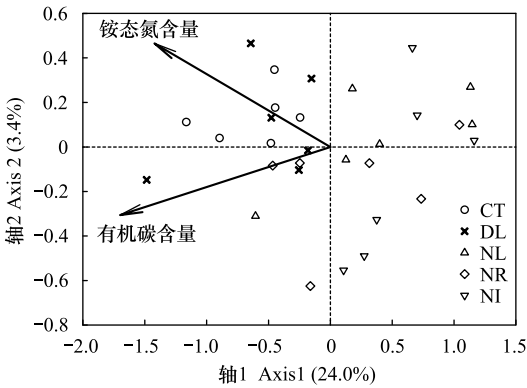


图 2 改变碳输入处理下微生物碳源代谢多样性与土壤因子之间的冗余分析

Fig.2 Redundancy analysis between carbon source metabolic diversity and soil factors under different carbon input treatments ($n=25$)

3 讨论

3.1 改变碳输入对土壤微生物碳源代谢功能的影响

本研究中,凋落物倍增处理轻微增加土壤微生物碳源代谢 Shannon 多样性。尽管有研究表明凋落物倍增降低针叶林土壤微生物代谢活性^[4],但综合本研究和大量国内外相关研究^[2],凋落物倍增增加针阔混交林土壤微生物代谢活性。本研究中,凋落物倍增处理增加土壤微生物对糖类和胺类的代谢能力,降低对羧酸类、氨基酸类和聚合物类的代谢能力。凋落物倍增对针叶林土壤活性碳代谢能力(如糖类、淀粉、羧酸类、纤维素等代谢或代谢相关土壤酶活性(β -葡萄糖苷酶、蔗糖酶、纤维二糖酶等)或基因多样性)的影响争议较大^[2, 23],但降低对惰性碳的代谢能力(如胺、聚合物、几丁质、角质、木质素等代谢或代谢相关土壤酶活性(芳基硫酸酯、 β -1, 4-N-乙酰葡萄糖氨糖苷酶、酚氧化酶、过氧化物酶等)或基因多样性)^[2]。尽管有研究表明凋落物倍增降低阔叶林土壤微生物活性碳代谢,增加惰性碳代谢^[24],但本研究和大多研究^[25-26]都表明凋落物倍增处理增加针阔混交林土壤微生物活性碳代谢,降低惰性碳代谢。森林土壤微生物代谢基因会随凋落物输入的质量而变化,当外界输入复杂的有机物,土壤微生物基因更倾向于代谢复杂的有机物^[2]。

本研究中,去除凋落物显著降低微生物碳源代谢能力。尽管有研究表明,去除凋落物增加针叶林和阔叶林土壤微生物生物量^[5],但更多研究表明,去除凋落物降低针叶林和阔叶林土壤微生物量^[27]、碳代谢活性^[2, 26]。本研究中,去除凋落物处理显著降低土壤微生物的活性碳代谢能力。尽管有研究发现去除凋落物显著增加活性碳代谢^[24],但大多研究表明去除凋落物显著降低活性碳代谢,如显著降低栓皮栎人工林土壤微生物的羧酸类、淀粉代谢,显著降低黑松人工林土壤羧酸类的代谢^[2],降低阔叶林土壤 β -葡萄糖苷酶活性^[25-26]。尽管有研究发现,去除凋落物处理显著增加阔叶林土壤惰性碳代谢^[24],但大多研究表明去除凋落物显著降低惰性碳代谢^[2, 28]。本研究和其它大多研究表明,去除凋落物降低针阔混交林土壤微生物碳代谢能力。这可能是去除凋落物减少向土壤中的有机物输入,降低微生物可利用底物。

表 6 碳源代谢多样性与土壤因子之间的秩相关分析

Table 6 Spearman correlation analysis between carbon source metabolic diversity and soil factors ($n = 25$)

土壤因子 Soil factors	碳源代谢丰富度 Carbon source metabolic richness	碳源代谢 Shannon 多样性 Carbon source metabolic Shannon-Wiener diversity	碳源代谢强度 Carbon source metabolic intensity
有机碳含量 Organic carbon content	0.494 **	0.506 **	0.573 **
铵态氮含量 Ammonium nitrogen content	0.471 **	0.417 *	0.231

*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$

本研究中,去除根系处理轻微降低土壤微生物碳源代谢能力。尽管有研究表明,去除根系增加美国 Andrews 针叶林中土壤微生物生物量^[27],但大多研究表明去除根系降低土壤微生物碳代谢功能^[2, 29]。本研究中去除根系处理降低土壤微生物对六大类碳源的代谢能力。大多研究表明,去除根系降低活性碳库代谢^[2]。在阔叶林中,去除根系显著降低土壤 β -葡萄糖苷酶活性^[26-27]。去除根系降低惰性碳库的利用或与惰性碳库相关酶的活性,例如降低黑松人工林中土壤微生物的胺类和聚合物类碳源代谢能力^[2]。根系分泌物如糖类、氨基酸、酶、脂肪族和芳香族等化合物,可作为营养物质促进微生物生长^[30],而根系分泌物中的酚类物质会抑制土壤微生物活性。根系共生的菌根真菌储存了大量光合固定的碳^[3]。本研究和其它大多研究表明,去除根系降低土壤微生物碳源代谢功能。

本研究中,无输入处理降低了土壤微生物碳源代谢能力。尽管在美国 Andrews 针叶林中无输入处理增加土壤微生物生物量^[27],但本研究与其他大多研究表明,无输入处理降低土壤碳代谢功能^[2, 26]。同时去除凋落物和根系,土壤微生物代谢受可利用底物限制^[31],碳代谢功能降低。

本研究中,去除凋落物处理降低微生物碳源代谢功能的幅度大于去除根系处理,表明在控制实验开展 21

个月的时间内,凋落物对沂蒙山区次生林土壤微生物碳源代谢功能的影响大于根系。温带落叶阔叶林中,根系对土壤呼吸的影响大于凋落物^[32],根系对针叶林土壤有机碳含量的影响大于凋落物^[3]。去除根系降低我国亚热带针叶林(侧柏(*Platycladus orientalis*)人工林)土壤有机碳的程度大于去除凋落物^[33]。原因为去除根系降低土壤大团聚体含量及其中的有机碳含量并减少大团聚体的粘合剂-真菌生物量;而去除凋落物未引起上述土壤属性变化^[33]。与地上碳输入相比,土壤微生物能更有效的利用地下碳输入形成稳定的土壤有机碳^[34]。但在我国亚热带阔叶林(厚夹相思(*Acacia crassicapa*)林和尾叶桉(*Eucalyptus urophylla*)林)中,从生物量和分解所产生的碳来说,凋落物对土壤有机碳含量的影响大于根系^[7]。在热带人工林,凋落物对土壤呼吸和微生物生物量的影响大于根系,而在次生林中则相反^[35]。凋落物和根系对土壤微生物碳代谢的影响随林型和温度带而变化。

需要指出的是,本研究采用挖壕沟法去除根系,残留根系大部分未降解^[36],会增加微生物可利用的碳源,进而增加微生物碳代谢能力。由于残留根系中不同化学成分降解速率不同^[37],且不同根系粗细^[37]和级别^[36]分解速率不同,如细根比粗根养分含量高^[38]但分解慢^[37],难以对碳源代谢能力的影响量化。考虑到壕沟里残留根系的贡献,凋落物和根系对土壤微生物碳代谢能力的相对影响可能会发生变化,未来的研究需要考虑到残留根系对土壤微生物碳源代谢的贡献。

3.2 改变碳输入条件下土壤碳源代谢的影响因素

冗余分析表明,土壤有机碳和铵态氮含量显著影响不同碳输入处理条件下土壤微生物碳源代谢多样性。有研究表明,土壤铵态氮、硝态氮含量显著影响黑松人工林中不同碳输入条件下土壤微生物碳源代谢功能多样性^[2];而土壤速效磷、含水量显著影响栓皮栎人工林中不同碳输入条件下微生物碳源代谢功能多样性^[2]。这与改变碳输入处理下,不同林型下土壤微生物代谢的影响因子不同有关。

冗余分析图中,凋落物倍增处理分布在土壤铵态氮和有机碳含量增加的方向,这表明凋落物倍增处理通过显著增加土壤有机碳和铵态氮含量(表2),改变土壤微生物碳源代谢图谱(图2),并增加微生物碳源代谢功能(表6)。去除凋落物处理、无输入处理都位于土壤铵态氮和有机碳减少的方向(图2),这表明这两个处理通过降低土壤有机碳和铵态氮含量(表2),改变微生物碳源代谢图谱(图2),降低微生物碳源代谢功能(表6)。凋落物倍增为微生物生长活动提供了碳源和氮源,刺激土壤微生物活性^[39],如凋落物倍增增强华北落叶松(*Larix principis-rupprechtii*)人工林土壤呼吸^[40]。沂蒙山区栎类天然次生林是针阔混交林,叶凋落物碳氮比为40,而低碳氮比有利于提高土壤有机氮矿化速率^[41],增加微生物碳源代谢能力。去除凋落物阻断了地上有机物输入,减少了碳源输入,降低微生物碳源代谢功能。

4 结论

采用 Biolog Eco 微平板培养法,研究改变碳输入对沂蒙山区栎类次生林土壤微生物碳源代谢功能的影响。结果表明,凋落物倍增处理增加了土壤微生物碳源代谢功能,增加了对糖类和胺类的利用能力。去除凋落物处理、去除根系处理、无输入处理降低了土壤微生物的碳源代谢功能。凋落物对土壤微生物碳源代谢能力的影响大于根系。土壤有机碳含量、铵态氮含量显著影响微生物碳源代谢多样性($P<0.05$),并与碳源代谢功能正相关。这表明凋落物倍增处理通过显著增加土壤有机碳含量和铵态氮含量($P<0.05$),改变土壤微生物碳源代谢图谱,增加土壤微生物碳源代谢功能。去除凋落物处理、无输入处理通过降低土壤有机碳含量和铵态氮含量,改变微生物碳源代谢图谱,降低微生物碳源代谢功能。结果深化了改变碳输入途径(地上凋落物与地下根系)、数量(凋落物倍增、去除凋落物与对照)对温带栎类天然次生林土壤微生物碳代谢过程的认识。

参考文献 (References):

- [1] Cotrufo M F, Soong J L, Horton A J, Campbell E E, Haddix M L, Wall D H, Parton A J. Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss. *Nature Geoscience*, 2015, 8(10): 776-779.

- [2] Wang Y, Zhang C, Zhang G N, Wang L Z, Gao Y, Wang X L, Liu B, Zhao X Y, Mei H P. Carbon input manipulations affecting microbial carbon metabolism in temperate forest soils-A comparative study between broadleaf and coniferous plantations. *Geoderma*, 2019, 355: 113914.
- [3] Clemmensen K E, Bahr A, Ovaskainen O, Dahlberg A, Ekblad A, Wallander H, Stenlid J, Finlay R D, Wardle D A, Lindahl B D. Roots and associated fungi drive long-term carbon sequestration in boreal forest. *Science*, 2013, 339(6127): 1615-1618.
- [4] Crow S E, Lajtha K, Bowden R D, Yano Y, Brant J B, Caldwell B A, Sulzman E W. Increased coniferous needle inputs accelerate decomposition of soil carbon in an old-growth forest. *Forest Ecology and Management*, 2009, 258(10): 2224-2232.
- [5] Huang W J, Spohn M. Effects of long-term litter manipulation on soil carbon, nitrogen, and phosphorus in a temperate deciduous forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 83: 12-18.
- [6] 段北星, 蔡体久, 宋浩, 肖瑞晗. 寒温带兴安落叶松林凋落物层对土壤呼吸的影响. *生态学报*, 2020, 40(4): 1357-1366.
- [7] Cao J B, He X X, Chen Y Q, Chen Y P, Zhang Y J, Yu S Q, Zhou L X, Liu Z F, Zhang C L, Fu S L. Leaf litter contributes more to soil organic carbon than fine roots in two 10-year-old subtropical plantations. *Science of the Total Environment*, 2020, 704: 135341.
- [8] Lajtha K, Bowden R D, Crow S, Fekete I, Kotrocó Z, Plante A, Simpson M J, Nadelhoffer K J. The detrital input and removal treatment (DIRT) network: insights into soil carbon stabilization. *Science of the Total Environment*, 2018, 640-641: 1112-1120.
- [9] Sokol N W, Kuebbing S E, Karlsen-Ayala E, Bradford M A. Evidence for the primacy of living root inputs, not root or shoot litter, in forming soil organic carbon. *New Phytologist*, 2019, 221(1): 233-246.
- [10] Jackson O, Quilliam R S, Stott A, Grant H, Subke J A. Rhizosphere carbon supply accelerates soil organic matter decomposition in the presence of fresh organic substrates. *Plant and Soil*, 2019, 440(1/2): 473-490.
- [11] Preusser S, Poll C, Marhan S, Angst G, Mueller C W, Bachmann J, Kandeler E. Fungi and bacteria respond differently to changing environmental conditions within a soil profile. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 137: 107543.
- [12] Bluhm S L, Eitzinger B, Ferlian O, Bluhm C, Schröter K, Pena R, Maraun M, Scheu S. Deprivation of root-derived resources affects microbial biomass but not community structure in litter and soil. *PLoS One*, 2019, 14(3): e0214233.
- [13] 刘旭军, 程小琴, 田慧霞, 刘莉, 韩海荣. 间伐和凋落物处理对华北落叶松人工林土壤磷形态的影响. *生态学报*, 2019, 39(20): 7686-7696.
- [14] Winding A. Fingerprinting bacterial soil communities using biolog microtitre plates//Ritz K, Dighton J, Giller K E, eds. *Beyond the Biomass*. Chichester: Wiley, 1994: 85-94.
- [15] Sparks D L, Page A L, Helmke P A, Loeppert R H, Soltanpour P N, Tabatabai M A, Johnston C T, Sumner M E. *Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods*. Wisconsin: Soil Science Society of America, 2009.
- [16] Pierzynski G M. *Methods of Phosphorus Analysis for Soils, Sediments, Residuals, and Waters*. Raleigh: North Carolina State University, 2000: 396-396.
- [17] Norman R J, Edberg J C, Stucki J W. Determination of nitrate in soil extracts by dual-wavelength ultraviolet spectrophotometry. *Soil Science Society of America Journal*, 1985, 49(5): 1182-1185.
- [18] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(8): 2351-2359.
- [19] Kohler F, Hamelin J, Gillet F, Gobat J M, Buttler A. Soil microbial community changes in wooded mountain pastures due to simulated effects of cattle grazing. *Plant and Soil*, 2005, 278(1): 327-340.
- [20] Mondini C, Insam H. Community level physiological profiling as a tool to evaluate compost maturity: a kinetic approach. *European Journal of Soil Biology*, 2003, 39(3): 141-148.
- [21] Kaufmann K, Christophersen M, Buttler A, Harms H, Höhener P. Microbial community response to petroleum hydrocarbon contamination in the unsaturated zone at the experimental field site Vaerløse, Denmark. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 48(3): 387-399.
- [22] Shannon C E. A mathematical theory of communication. *ACM Sigmobile Mobile Computing and Communications Review*, 2001, 5(1): 3-55.
- [23] Zhao Q, Classen A T, Wang W W, Zhao X R, Mao B, Zeng D H. Asymmetric effects of litter removal and litter addition on the structure and function of soil microbial communities in a managed pine forest. *Plant and Soil*, 2017, 414(1/2): 81-93.
- [24] Liu X F, Lin T C, Yang Z J, Vadeboncoeur M A, Lin C F, Xiong D C, Lin W S, Chen G S, Xie J S, Li Y Q, Yang Y S. Increased litter in subtropical forests boosts soil respiration in natural forests but not plantations of *Castanopsis carlesii*. *Plant and Soil*, 2017, 418(1/2): 141-151.
- [25] Fekete I, Varga C, Kotrocó Z, Tóth J A, Várbiró G. The relation between various detritus inputs and soil enzyme activities in a Central European deciduous forest. *Geoderma*, 2011, 167-168: 15-21.
- [26] Lajtha K, Bowden R D, Nadelhoffer K. Litter and root manipulations provide insights into soil organic matter dynamics and stability. *Soil Science Society of America Journal*, 2014, 78(S1): S261-S269.
- [27] Brant J B, Myrold D D, Sulzman E W. Root controls on soil microbial community structure in forest soils. *Oecologia*, 2006, 148(4): 650-659.

- [28] Maillard F, Leduc V, Bach C, Reichard A, Fauchery L, Saint-André L, Zeller B, Buée M. Soil microbial functions are affected by organic matter removal in temperate deciduous forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 133: 28-36.
- [29] Feng W T, Schaefer D A, Li J Z, Chen J H, Feng Z L, Zou X M. Soil mono- and disaccharides and amino acids as influenced by plant litter and root processes in a subtropical moist forest of southwest China. *Biogeochemistry*, 2009, 92(1/2): 119-128.
- [30] Gilbert E S, Crowley D E. Plant compounds that induce polychlorinated biphenyl biodegradation by *Arthrobacter* sp. strain B1B. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(5): 1933-1938.
- [31] Fierer N. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(10): 579-590.
- [32] Pisani O, Lin L H, Lun O O Y, Lajtha K, Nadelhoffer K J, Simpson A J, Simpson M J. Long-term doubling of litter inputs accelerates soil organic matter degradation and reduces soil carbon stocks. *Biogeochemistry*, 2016, 127(1): 1-14.
- [33] Wu J J, Zhang D D, Chen Q, Feng J, Li Q X, Yang F, Zhang Q, Cheng X L. Shifts in soil organic carbon dynamics under detritus input manipulations in a coniferous forest ecosystem in subtropical China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 126: 1-10.
- [34] Sokol N W, Bradford M A. Microbial formation of stable soil carbon is more efficient from belowground than aboveground input. *Nature Geoscience*, 2019, 12(1): 46-53.
- [35] Li Y Q, Xu M, Sun O J, Cui W C. Effects of root and litter exclusion on soil CO₂ efflux and microbial biomass in wet tropical forests. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(12): 2111-2114.
- [36] Sun T, Hobbie S E, Berg B, Zhang H G, Wang Q K, Wang Z W, Hattenschwiler S. Contrasting dynamics and trait controls in first-order root compared with leaf litter decomposition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(41): 10392-10397.
- [37] Sun T, Mao Z J, Dong L L, Hou L L, Song Y, Wang X W. Further evidence for slow decomposition of very fine roots using two methods: litterbags and intact cores. *Plant and Soil*, 2013, 366(1/2): 633-646.
- [38] Sun T, Mao Z J, Han Y Y. Slow decomposition of very fine roots and some factors controlling the process: a 4-year experiment in four temperate tree species. *Plant and Soil*, 2013, 372(1/2): 445-458.
- [39] Feng M M, Adams J M, Fan K K, Shi Y, Sun R B, Wang D Z, Guo X S, Chu H Y. Long-term fertilization influences community assembly processes of soil diazotrophs. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 126: 151-158.
- [40] 彭信浩, 韩海荣, 徐小芳, 蔡锰柯, 白英辰, 程小琴. 间伐和改变凋落物输入对华北落叶松人工林土壤呼吸的影响. *生态学报*, 2018, 38(15): 5351-5361.
- [41] 肖瑞晗, 满秀玲, 丁令智. 大兴安岭北部天然针叶林土壤氮矿化特征. *生态学报*, 2019, 39(8): 2762-2771.