

DOI: 10.5846/stxb202005141233

王利彦, 周国娜, 朱新玉, 高宝嘉, 许会道. 凋落物对土壤有机碳与微生物功能多样性的影响. 生态学报, 2021, 41(7): 2709-2718.

Wang L Y, Zhou G N, Zhu X Y, Gao B J, Xu H D. Effects of litter on soil organic carbon and microbial functional diversity. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(7): 2709-2718.

凋落物对土壤有机碳与微生物功能多样性的影响

王利彦¹, 周国娜¹, 朱新玉², 高宝嘉^{1,*}, 许会道²

¹ 河北农业大学 林学院, 保定 071000

² 商丘师范学院 测绘与规划学院, 商丘 476000

摘要: 森林凋落物是影响土壤微生物群落和有机碳含量的重要因素, 但其作用的程度和机制尚不清楚, 研究该问题对于分析森林生态系统碳循环和资源管理具有重要意义。研究凋落物去除与添加处理下土壤有机碳含量与土壤微生物对碳源利用的差异, 明确凋落物去除与添加对土壤微生物群落代谢功能及其多样性的影响, 探究不同处理下 SOC 含量变化的土壤微生物群落代谢机理。选取承德市雾灵山 1405—1435 m 海拔范围内核桃楸—蒙古栎混交林的表层土壤, 采用室内培养结合 Biolog-ECO 方法, 测定了培养第 21 天的土壤有机碳 (soil organic carbon, SOC) 含量及微生物群落的 AWCD 值、Shannon-Wiener 多样性指数、Simpson 优势度指数、McIntosh 均匀度指数、Pielou 丰富度指数, 分析培养期内凋落物的不同处理下 SOC 含量与微生物功能多样性的变化特征。结果表明: 1) 不同凋落物处理对 SOC 含量与土壤微生物群落多样性具有显著影响 ($P < 0.05$), $DL > HL > NL > CK$; 2) 不同凋落物处理下土壤微生物群落代谢活性和土壤微生物对碳源的利用程度具有显著差异 ($P < 0.05$), 碳水化合物类和氨基酸类是土壤微生物的主要碳源; 3) 不同处理的 SOC 含量与土壤微生物多样性具有正相关关系。双倍凋落物添加在短期内对土壤微生物多样性影响难以达到显著水平且在一定程度上对土壤微生物的代谢活性具有抑制作用, 土壤微生物群落功能多样性对 SOC 含量具有重要影响。

关键词: 森林凋落物; 土壤有机碳; 土壤微生物; 代谢功能; 群落功能多样性

Effects of litter on soil organic carbon and microbial functional diversity

WANG Liyan¹, ZHOU Guona¹, ZHU Xinyu², GAO Baojia^{1,*}, XU Huidao²

¹ College of Forestry, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China

² College of Surveying and Planning, Shangqiu Normal University, Shangqiu 476000, China

Abstract: Forest litter is an important factor affecting soil microbial community and organic carbon content, and plays an important role in soil organic carbon formation and microbial growth and reproduction. The changes of soil organic carbon content and microbial community during litter decomposition have become the focus of current forest ecology research, but the extent and mechanism of its role are still unclear. It is of great significance to analyze the carbon cycle and resource management of the forest ecosystem. This study aimed to study the differences of soil organic carbon content and carbon source utilization by soil microorganisms under litter removal and addition treatments, to clarify the effects of litter removal and addition on the metabolic function and diversity of soil microbial community, and to preliminarily explore the metabolic mechanism of soil microbial community under different treatments. We hypothesized that soil organic carbon content was affected by the functional diversity of soil microbial community when litter input changed. The surface soil of the mixed forest of *Catalpa chinensis* and *Quercus mongolica* in the altitude range of 1405—1435 m in Wuling Mountain, Chengde City was selected. Using incubation combined with the Biolog-ECO method, the content of soil organic carbon (SOC) and the average well color development (AWCD) value of the microbial community, Shannon-Wiener index, Simpson index,

收稿日期: 2020-05-14; 网络出版日期: 2021-01-27

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

McIntosh index and Pielou index of the microbial community were measured on the 21st day of cultivation. The changes of the soil organic carbon content and microbial functional diversity under different treatments of litter during the cultivation period were analyzed. The results showed that 1) different litter treatments had significant effects on the soil organic carbon content and soil microbial community diversity ($P < 0.05$), $DL > HL > NL > CK$; 2) There were significant differences in the metabolic activity of soil microbial community and the utilization of carbon sources by soil microorganisms under different litter treatments ($P < 0.05$). The carbohydrate and amino acids were the main carbon sources of soil microorganisms; 3) There was a positive correlation between soil organic carbon content and soil microbial diversity. The effects of double litter addition on soil microbial diversity were difficult to reach a significant level in the short term, and it inhibited the metabolic activity of soil microbes to a certain extent. The functional diversity of soil microbial communities had an important impact on soil organic carbon content. The results of this study can provide scientific basis and practical reference for the sustainable management of the mixed forest of *Catalpa chinensis* and *Quercus mongolica*.

Key Words: forest litter; SOC; soil microorganisms; metabolic function; community functional diversity

凋落物是植物生长发育过程中新陈代谢的产物,有利于促进土壤有机碳(soil organic carbon, SOC)的形成和微生物的活性及群落生长繁殖,土壤微生物在凋落物分解、有机质转化等方面发挥着重要作用^[1-5]。森林生态系统中可以通过凋落物添加与去除试验(detritus input and removal treatments, DIRT)来研究凋落物对土壤微生物群落的影响以及 SOC 含量的变化规律^[6]。室内培养试验能够控制土壤的温度、水分和 pH 状况,其结果对今后进行野外试验具有一定的指导和参考价值。

凋落物分解过程中 SOC 含量与微生物群落的变化特征等内容成为当前森林生态学领域研究的重点内容^[7]。研究证明,添加凋落物会增加 SOC 含量和碳氮比^[8-9],但也有研究表明添加凋落物与否, SOC 含量并无显著差异^[10-11]。土壤微生物群落结构受到凋落物数量和质量的影响,进而影响土壤碳氮循环过程^[12]。目前通过 DIRT 试验研究凋落物数量变化对土壤微生物的影响研究亦有报道^[13-14],研究表明凋落物添加与去除处理使土壤微生物群落结构发生显著变化,且土壤真菌、细菌、放线菌的 PLFA 含量具有显著差异,上述研究未曾针对凋落物的不同添加量与土壤微生物群落结构的关系进行深入探讨。近年来,室内土壤培养实验结合 Biolog-ECO 技术能够最大限度地保留微生物群落的原有代谢特征^[15],是土壤微生物群落的生理特征和功能多样性研究的常见方法^[16-20]。

目前学者的研究主要集中在凋落物与土壤养分、土壤微生物的关系方面,但凋落物对土壤微生物群落结构的影响以及土壤微生物群落与有机碳的代谢关系等机制性问题尚不清楚。本研究假设在凋落物输入发生变化时土壤有机碳含量受到土壤微生物群落功能多样性的影响,以雾灵山核桃楸—蒙古栎天然混交林的表层土壤为研究对象,通过去除和添加核桃楸与蒙古栎叶凋落物处理后室内恒温培养并结合 Biolog-ECO 方法,分析不同凋落物处理下 SOC 含量和土壤微生物的碳源利用差异,研究凋落物的去除与添加对 SOC 含量和土壤微生物群落代谢功能多样性的影响,探究不同处理下 SOC 含量变化的土壤微生物群落代谢机理,为核桃楸—蒙古栎混交林型的可持续经营提供科学依据和实践参考。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

本研究的供试土壤为雾灵山国家自然保护区 1405—1435 m 处的核桃楸—蒙古栎混交林地 0—20 cm 的表层土壤,土壤类型为粉壤土,土地利用类型为天然混交林,年均温为 7.6℃,年降水量 763 mm,田间持水量为 21.15%。在该林地内设置面积为 20 m×15 m 的样地,去除表层凋落物后按五点采样法采取 0—20 cm 的土壤,每个点采集 3 下,混合成 1 份,共采集土壤样品 5 份,带回实验室备用。

1.2 试验设计

为保证室内培养各个处理土样的一致性,故将各点采集的土样混合成一份,去除大型土壤动物、大型植物残体(残枝与根系)和凋落物。分别称取 500 g 干土的新鲜土壤进行挑除根系(CK)、保留根系(No litter, NL)、保留根系并添加单倍凋落物(Haploid litter, HL)、保留根系并添加双倍凋落物(Double litter, DL)四种处理。将在样地内采集的蒙古栎、核桃楸以及少部分草本植物的叶凋落物剪碎过 2 mm 筛后添加并与土壤充分混匀,添加标准为 2 g/100 g 干土,DL 加倍。所添加的凋落物为未分解形态凋落物,NL、HL 和 DL 的根系保留量为 8—10 g。

处理后,装入 1000 mL 的培养瓶,各处理重复 3 次。调节含水量至田间持水量的 70%后,置于 25℃ 的培养箱中培养,每 3 天采用称重法补足缺失的水分,在培养至 21 d 时进行破坏性采样。为对比室内培养对 SOC 含量与土壤微生物代谢活性的影响,测定培养开始前的土壤(before cultivation, BC)和培养第 21 天时土壤的 SOC 含量及微生物群落的代谢活性(average well color development, AWCD)、Shannon-Wiener 多样性指数、Simpson 优势度指数、McIntosh 均匀度指数、Pielou 丰富度指数,测定时均去除土样中的根系与凋落物。

1.3 研究方法

田间持水量采用环刀法测定;土壤有机碳采用重铬酸钾氧化—高温外加热法测定;土壤颗粒组成采用激光粒度分布仪(Bettersize 2000)测定。土壤微生物代谢活性和土壤微生物功能多样性指数采用 Biolog-ECO 方法,根据温育 96 h 时在酶标仪所测的吸光度计算求得。

1.4 数据处理

试验数据采用 SPSS 25.0 和 Excel 2019 软件进行处理,采用 Origin 8.6 绘制图形。采用 ANOVA 进行方差分析,多重比较利用最小显著差异法(Least-Significant Difference, LSD),文中字母相同代表差异不显著($P > 0.05$),字母不同代表差异显著($P < 0.05$)。主成分分析(principal component analysis, PAC)采用降维的方法将不同样本的多元向量变换为互不相关的主元向量进行分析。

2 结果与分析

2.1 土壤有机碳含量的变化特征

从整体上来看,4 种不同处理土壤的 SOC 含量不同:DL 的 SOC 含量最高,CK 的 SOC 含量最低,且随凋落物添加量的变化,SOC 含量呈现上升趋势(图 1)。

添加凋落物对 SOC 含量具有显著的影响。与培养之前(BC)相比,除 CK 处理的 SOC 含量减少了 4.15% 外,NL、HL、DL 处理的 SOC 含量分别增加了 1.88%、5.79% 和 9.29%;去除凋落物与根系处理的 SOC 含量并无显著差异($P > 0.05$),而添加凋落物处理的 SOC 含量显著升高($P < 0.05$)。

凋落物的去除与添加对 SOC 有不同的影响。去除凋落物处理后,是否含有根系也对 SOC 含量有显著差异,NL 处理的 SOC 含量显著高于 CK;而添加凋落物数量的不同没有对 SOC 含量造成明显影响,HL 处理的 SOC 含量与 DL 处理无明显差异($P > 0.05$);添加凋落物处理的 SOC 含量显著高于去除凋落物处理的土壤($P < 0.05$)。

2.2 土壤微生物群落代谢活性的变化特征

由图 2 可以看出,土壤微生物的代谢活性(AWCD 值)总体上呈现 S 型曲线变化,均随培养时间的延长而

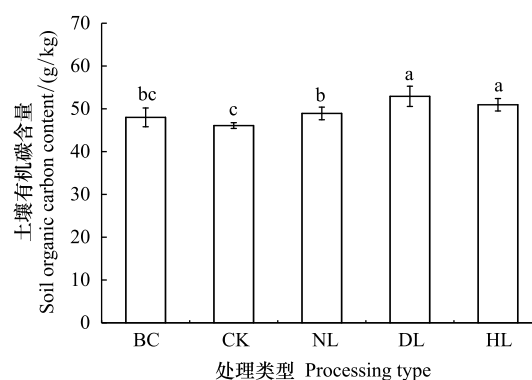


图 1 土壤有机碳含量变化特征

Fig.1 Variation characteristics of soil organic carbon content

BC:培养前, before cultivation; CK:挑除根系和凋落物; NL:保留根系, No litter; HL:保留根系并添加单倍凋落物, Haploid litter; DL:保留根系并添加双倍凋落物 Double litter

增加,最终趋向于平稳;温育的前 24 h 内变化不明显,在 24 h 后进入迅速增长阶段,且在第 48 小时 HL 和 DL 对碳源利用的增长速度与利用程度均明显高于 BC、CK 和 NL 并在第 168 小时出现“拐点”达到最大值。

与 BC 相比,CK 与 NL 的平均 AWCD 值在温育第 144 小时后呈现明显降低,而 HL 和 DL 的平均 AWCD 值则在温育第 48 h 时显著增加 ($P<0.05$)。经过 21 d 的培养后,土壤微生物对碳源的利用程度与培养之前有显著的差异,而且不同处理间土壤微生物群落代谢活性差异明显,HL 最高,NL 最低,表现为 $HL>DL>CK>NL$ (表 1);在 120 h 至 168 h 之间 HL 处理的 AWCD 值明显大于 DL,而且在 168 h 以后 HL 和 DL 两种凋落物添加处理无明显差异。

2.3 土壤微生物对不同碳源的利用强度

由图 3 可见,脂类是土壤微生物的主要利用碳源,醇类和碳水化合物类利用最少。与培养之前相比,CK 和 NL 处理的土壤微生物除对胺类的利用显著增加外,对其他碳源的利用均呈现出明显的下降现象,且对醇类的下降显著 ($P<0.05$);而 HL 和 DL 处理的土壤微生物对各类碳源的利用均显著增加 ($P<0.05$)。

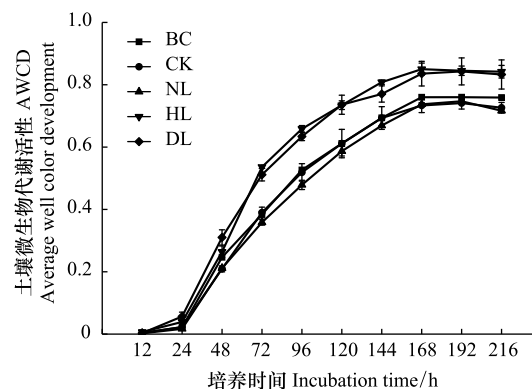


图 2 不同凋落物添加处理土壤微生物平均颜色变化率

Fig. 2 Average color change rate of soil microorganisms with different litter addition treatment

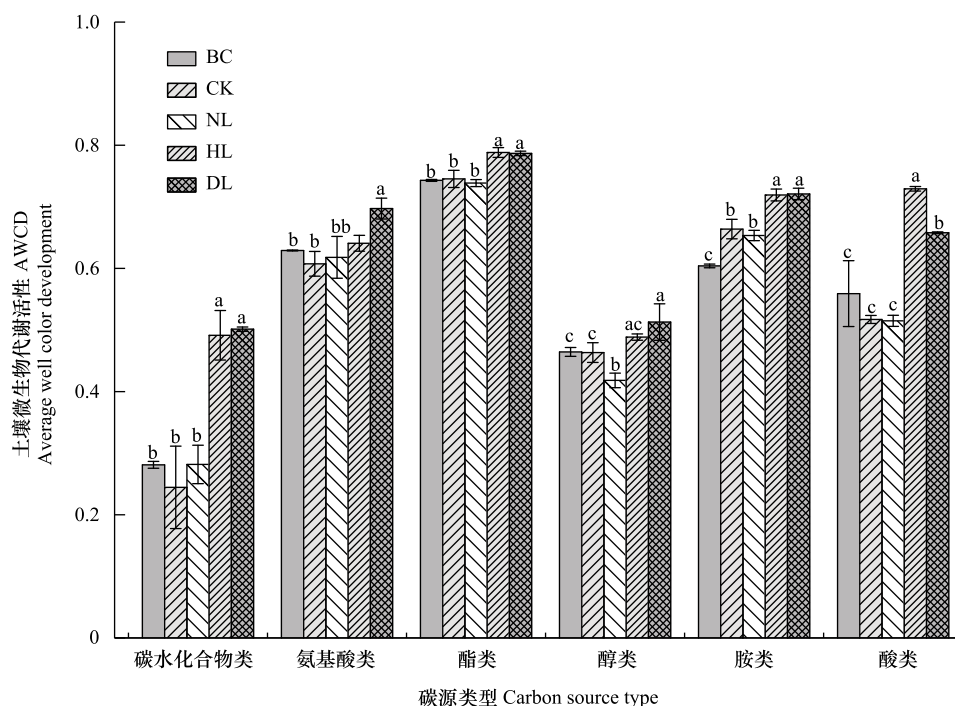


图 3 土壤微生物群落对 6 类碳源的利用程度

Fig. 3 Utilization of 6 types of carbon sources by soil microbial community

室内培养 21 d 后,4 种不同的凋落物处理对碳源的利用上呈现出显著差异。由图 3 可以看出,土壤微生物对各类碳源的利用均是 DL 最高,HL 和 DL 大于 CK 和 NL;CK 和 NL 处理下土壤微生物对醇类的利用上差异显著,CK>NL;在氨基酸类和酸类的利用上,HL 和 DL 有显著的差异,DL 对氨基酸类的利用显著高于 HL,而 HL 对酸类的利用明显高于 DL ($P>0.05$)。

2.4 土壤微生物群落多样性指数分析

由表 1 可以看出,与培养之前相比,在温育第 96 小时时各处理间 AWCD 值及土壤微生物多样性指数均出现 CK 和 NL 处理降低、HL 和 DL 处理升高的现象,HL 处理的 AWCD 值最高,NL 最低。CK 和 NL 处理的土壤微生物群落 Shannon-Wiener 多样性指数和 Pielou 丰富度指数无明显变化($P>0.05$),HL 和 DL 处理则显著增加;CK 和 NL 处理的各多样性指数均较培养之前有所减小,且 NL 处理的 McIntosh 均匀度指数较 BC 降低显著($P<0.05$)。室内培养 21 d 后,各处理间的多样性指数均有所变化;土壤微生物群落 Shannon-Wiener 多样性指数、Simpson 优势度指数和 Pielou 丰富度指数与凋落物添加量呈现正相关关系,表现为 $DL>HL>NL>CK$,且 DL 和 HL、NL 和 CK 差异不显著($P>0.05$);Mcintosh 均匀度指数则不同,各处理之间有显著的差异,表现为 $HL>DL>NL>CK$ 处理($P<0.05$)。

表 1 土壤微生物群落 AWCD 值及多样性指数

Table 1 Soil microbial community AWCD and diversity index

时间 Time	处理方式 Treatments	平均颜色变化率 AWCD	多样性指数 Diversity indexes			
			Shannon-Wiener 指数 Shannon-Wiener index	Simpson 指数 Simpson index	Mcintosh 指数 McIntosh index	Pielou 指数 Pielou index
21d	BC	0.531±0.004c	3.148±0.003b	0.949±0.006bc	3.593±0.009d	0.928±0.003b
	CK	0.519±0.028c	3.131±0.056b	0.946±0.002b	3.532±0.069d	0.921±0.017b
	NL	0.479 ±0.015b	3.150±0.016b	0.949±0.006bc	3.235±0.081c	0.922±0.009b
	HL	0.658 ±0.011a	3.223±0.003a	0.955±0.003ac	4.219±0.060a	0.951±0.006a
	DL	0.634 ±0.013a	3.256±0.028a	0.958±0.001a	4.003±0.025b	0.953±0.004a

AWCD:土壤微生物代谢活性,average well color development;BC:培养前,before cultivation;CK:挑除根系和凋落物;NL:保留根系,No litter;HL:保留根系并添加单倍凋落物,Haploid litter;DL:保留根系并添加双倍凋落物 Double litter。同列中不同字母表示差异显著($P<0.05$),数值为平均数±标准差

2.5 土壤微生物群落代谢功能主成分分析

通过主成分分析,在 31 种碳源中提取了 4 个特征值大于 1 的主成分分子,累计方差贡献率达到 99.463%。结合碎石图上的斜率变化从中选取贡献率为 74.543% 的前两个主成分因子 PC1 和 PC2 (贡献率分别为 46.956% 和 27.587%) 来分析微生物群落功能多样性(图 4)。如图 4 所示,培养前和 4 种凋落物处理的土壤在 PC1 和 PC2 上分布分散。由于 PC1 和 PC2 反映的变异较大,计算得到各处理的得分系数(表 2),可以看到培养前后以及不同凋落物处理后综合得分系数差异显著($P<0.05$)。

表 2 不同凋落物添加处理主成分得分系数

Table 2 Different litter addition treatment principal component score coefficient

时间 Time	处理方式 Treatments	主成分 1 PC1	主成分 2 PC2	综合得分 Overall ratings
21d	BC	-0.926±0.101d	1.512±0.105a	-0.024±0.102c
	CK	-0.652±0.057c	-0.094±0.057d	-0.445±0.057d
	NL	-0.767±0.029c	-1.521±0.032b	-1.047±0.030e
	HL	1.293±0.091a	0.177±0.097c	0.880±0.093a
	DL	1.052±0.071b	-0.073±0.081d	0.636±0.075b

将主成分的得分系数与各单一碳源的 AWCD 值做相关性分析(表 3),发现与 PC1 显著相关性的碳源有 22 种,其中碳水化合物类 6 种、氨基酸类 3 种、醇类 2 种、胺类 3 种、酸类 5 种、酯类 3 种;与 PC2 显著相关性的碳源有 10 种,其中包括碳水化合物类 3 种、氨基酸类 2 种、醇类 1 种、酸类 2 种、酯类 2 种。对 PC1 和 PC2 起主要作用的分别是碳水化合物类和氨基酸类,因此碳水化合物类和氨基酸类在主成分分离中发挥主要贡献作用。

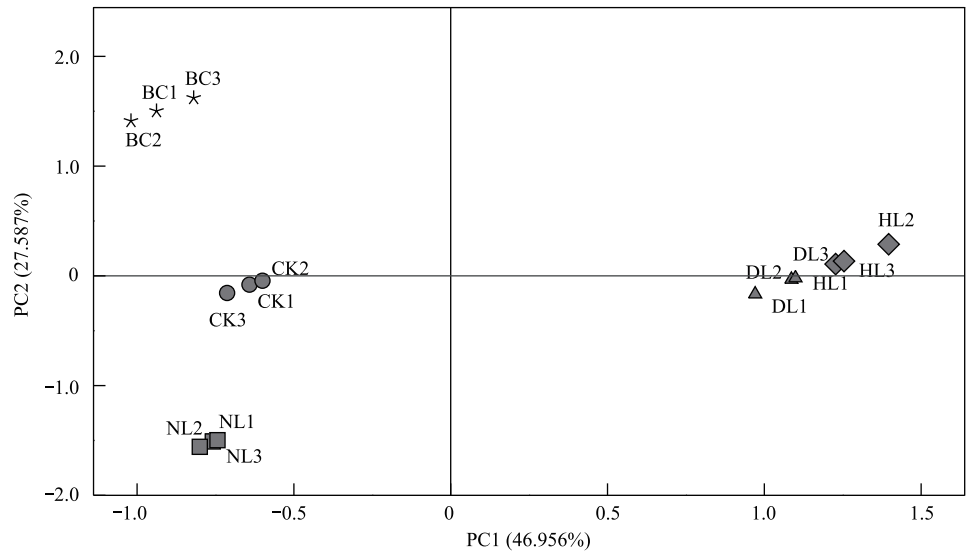


图 4 土壤微生物群落功能多样性的主成分分析

Fig. 4 Principal component analysis of soil microbial community function

表 3 与主成分 1 和主成分 2 的相关显著的碳源

Table 3 Correlation coefficients of the main carbon sources with PC1 and PC2

主成分 1 PC1	相关性 Correlation coefficient <i>r</i>	主成分 2 PC2	相关性 Correlation coefficient <i>r</i>
碳水化合物类 Carbohydrates		碳水化合物类	
肝糖 Hepatic Glycogen	0.804 **	a-环状糊精	0.820 **
D-纤维二糖 D-cellobiose	0.630 *	a-D-乳糖	-0.628 *
a-D-乳糖 A-d-lactose	0.589 *	D-纤维二糖	0.720 **
β-甲基 D-葡萄糖苷 β- methyl D-glucoside	0.917 **	氨基酸类	
D-木糖 D-xylose	0.958 **	L-天冬酰胺酸	0.829 **
葡萄糖-1-磷酸盐 Glucose-1-phosphate	0.546 *	L-丝氨酸	0.927 **
氨基酸类 Amino acids		醇类	
L-精氨酸 L-arginine	0.943 **	D-甘露醇	0.870 **
L-苯基丙氨酸 L-phenylalanine	0.772 **	酸类	
甘氨酸-L-谷氨酸 Glycyl-l-glutamic acid	0.894 **	D-氨基葡萄糖酸	0.821 **
醇类 Alcohols		D-半乳糖醛酸	0.620 *
I-赤藻糖醇 I-erythritol	0.931 **	酯类	
D,L-a-甘油 D,L-a-glycerin	0.620 *	吐温 40	0.826 **
胺类 Amine		D-半乳糖酸 γ 内酯	0.609 *
N-乙酰基-D-葡萄糖胺 N-acetyl-D-glucosamine	0.773 **		
苯乙基胺 Phenylethylamine	0.810 **		
腐胺 Putrescine	0.769 **		
酸类 Acids			
4-羟基苯甲酸 4-hydroxybenzoic acid	0.957 **		
2-羟基苯甲酸 2-hydroxybenzoic acid	0.568 *		
r-羟基丁酸 R-hydroxybutyric acid	0.708 **		
衣康酸 Itaconic acid	0.991 **		
D-苹果酸 D-Malic acid	0.697 **		
酯类 Esters			
吐温 80 Tween 80	-0.738 **		
丙酮酸甲酯 Methyl pyruvate	0.911 **		
D-半乳糖酸 γ 内酯 D-galactose γ lactone	0.523 *		

* 表示 0.05 水平下相关性显著; ** 表示 0.01 水平下相关性极显著

2.6 土壤有机碳与土壤微生物多样性的相关性分析

对 SOC 含量与土壤微生物多样性指数进行相关性分析(表 4),由表 4 可以看出土壤微生物多样性与 SOC 含量的相关性在 0.4—0.6 之间,属于中等强度水平,Simpson 优势度指数与 SOC 含量的相关性最高,为 0.637。各个土壤微生物多样性指数之间的相关性分析发现,各多样性指数间的相关性水平都较高,土壤微生物 McIntosh 均匀度指数与 AWCD 值的相关性最高,其次为 Shannon-Wiener 多样性指数与 Simpson 优势度指数,McIntosh 均匀度指数与 Pielou 丰富度指数的相关性最低,为 0.902。

表 4 多样性指标与 SOC 含量的相关性检验

Table 4 Correlation test between diversity index and SOC content

指标 Index	土壤有机碳 Soil organic carbon	土壤微生物 代谢活性 AWCD	Shannon-Wiener 指数 Shannon-Wiener index	Simpson 指数 Simpson index	McIntosh 指数 McIntosh index
AWCD	0.530				
Shannon-Wiener 指数 Shannon-Wiener index	0.584	0.934			
Simpson 指数 Simpson index	0.637	0.923	0.964		
McIntosh 指数 McIntosh index	0.544	0.997	0.924	0.917	
Pielou 指数 Pielou index	0.622	0.909	0.938	0.981	0.902

3 讨论

3.1 凋落物输入变化对 SOC 含量的影响

SOC 主要来源于凋落物的分解和积累^[21],土壤有机碳库的变化在生态系统中表现为净初级生产力与土壤有机质分解之间的平衡^[22],林地的表层土壤是有机质向土壤碳库转移的关键场所,能够表征 SOC 积累状况。本研究发现:凋落物的加倍添加处理使 SOC 含量显著增加(图 1),这与前人研究结果一致^[23-24]。因为凋落物在分解过程中向土壤中释放大量的营养物质,间接提高了 SOC 的含量^[25]。本研究还发现 HL 处理的 SOC 含量与 DL 处理并无显著差异,这与卢胜旭^[26]等的研究不一致。说明与添加单倍凋落物相比双倍凋落物的添加在短期内并未对 SOC 造成更大影响,可能由于凋落物加倍为微生物提供了丰富的底物来源,对土壤有机质产生“正激发效应”,从而提高了微生物对土壤 SOC 的分解使 DL 处理与 HL 处理 SOC 的差异不显著^[27],也有可能是因为一定体积的土壤在短期内只能接受有限的有机质分解。

在浅层土壤内分布着植物细根^[28-29],通过分泌有机物质向土壤中输送有机碳^[30],对森林生态系统的碳循环具有重要作用,研究发现通过根系周转进入土壤的有机物质是土壤碳库的重要组成部分,如果忽略根系在 SOC 积累中的作用,则 SOC 的研究有失全面^[31-33]。本研究也发现与 BC 相比,去除凋落物和根系(CK)后 SOC 含量降低,而去除凋落物保留根系处理(NL)的 SOC 含量升高,说明根系存在与否对 SOC 含量有明显影响,正好印证了这一说法。这是因为不同处理的土壤微生物代谢活性差异明显(图 2),与 BC 相比,培养 21 d 后 CK 的 SOC 含量降低可能是由于去除根系与凋落物后,CK 土壤中微生物生存环境发生改变,微生物数量减少,以致于储存在土壤微生物中的 SOC 含量减少;而 NL 的 SOC 含量变化不明显则有可能是因为 NL 土壤中所保留的根系为土壤微生物的生存提供了必需的营养源,在短期内对土壤微生物数量没有造成明显影响。

3.2 土壤微生物代谢功能对凋落物输入变化的响应

3.2.1 对土壤微生物代谢活性的影响

Biolog-ECO 方法在土壤微生物功能特征的研究中得到广泛应用,Biolog-ECO 板含 6 大类有 31 种碳源:碳水化合物类、氨基酸类、酯类、醇类、胺类、酸类。根据 Biolog 数据计算得出的 AWCD 值是表征土壤微生物单一碳源利用能力的重要指标,能够反映土壤微生物对碳源的利用程度^[34],是表征土壤微生物代谢活性的重要指标。有研究发现土壤微生物的生长存在适应期、对数生长期和稳定期 3 个阶段^[35],本研究中 AWCD 值呈现

S 型曲线变化(图 2),正好符合该生长规律。如图 2 所示,土壤微生物在前 24 h 处于适应期对 ECO 板的碳源利用很少,而经历了 24 h 后微生物逐渐适应了 ECO 板的生存环境,进入快速生长的对数增长期,微生物的代谢活性较为旺盛。AWCD 值在 48 h 后开始出现明显的分化现象,HL 和 DL 的增长速度明显快于 CK 和 NL,微生物进入对数生长期,说明碳源被大量利用,凋落物的添加刺激了土壤微生物的代谢活性。在 120 h 至 168 h 之间 HL 处理的 AWCD 值明显大于 DL 这一现象可能是由于过多的添加凋落物在一定程度上对土壤微生物代谢活性具有抑制作用,而且在温育第 168 h 以后 HL 和 DL 的 AWCD 值无明显差异则体现出双倍凋落物的添加与单倍凋落物添加对土壤微生物代谢活性无显著的影响。

3.2.2 对土壤微生物碳源利用的影响

群落代谢功能多样性指数可以反映土壤微生物群落利用碳源类型的差异,即土壤微生物的生态特征。土壤微生物群落功能多样性是评价土壤生态系统稳定性的重要生物学指标,土壤微生物群落物种组成和个体数量分布情况能够通过土壤微生物多样性指数反映出来^[36-38]。本研究中不同凋落物添加处理培养后与培养前的土壤微生物相比对单一碳源的利用(图 3)以及各多样性指数间(表 2)均有较大的差异,四种处理的土壤微生物对碳源种类的利用各有侧重,但 DL 处理的土壤微生物对各种碳源的利用程度最高,其原因在于凋落物可以为微生物生长提供大量碳源与营养元素,添加量越高,越有利于微生物繁殖^[39],说明对土壤进行凋落物的去除与添加处理后土壤微生物群落结构组成发生了显著地变化。由表 2 可以凋落物的去除与添加处理对土壤微生物群落的均匀度具有显著影响,而凋落物去除处理中,是否存在根系对土壤微生物群落的多样性、丰富度没有显著影响,这与胡凯等^[40]的研究不一致,但 DL 和 HL 两处理间无显著差异($P>0.05$),说明凋落物的含量与土壤微生物多样性呈现正相关关系,但是双倍凋落物的添加在短期内无法达到更为显著的水平,这一现象是否是由于双倍凋落物添加会抑制土壤微生物代谢活性还需做进一步的研究。

3.2.3 对土壤微生物群落代谢功能的影响

凋落物作为土壤有机质的重要来源,凋落物输入量变化可通过改变土壤有机碳和养分含量等,从而影响土壤微生物群落组成^[10]。

在主成分分析中,样本之间距离的大小代表样本间相似程度,进而反映样本间微生物群落代谢功能差异的大小,距离越近,对碳源的利用能力越近,代谢功能差异程度越小^[41]。采用 PCA 主成分分析法(PCA)将温育 96 h 后 Biolog-ECO 板每个孔的 AWCD 值转化为几个主成分,可以更好地反映微生物代谢功能特征的变化,用于解释微生物对碳源利用的多样性。通过 PCA 分析和不同类型碳源利用强度发现,在对土壤进行凋落物去除与添加处理后,土壤微生物对碳源的利用模式具有明显的差异(图 4),说明 PC1 和 PC2 基本上能够区分培养前后和不同凋落物处理的土壤微生物群落代谢功能的差异,凋落物进入土壤后对土壤微生物的生存环境产生了重要影响,最终导致土壤微生物群落多样性的变化,这与 Swift 等^[42]的研究结果一致。

土壤微生物多样性指数与 AWCD 值在总体上反映了土壤中微生物群落的变化情况,但不能反映土壤中微生物群落代谢的具体信息^[37],还应进一步分析。

3.3 不同处理下 SOC 含量变化的土壤微生物群落代谢机理

SOC 是土壤微生物生命活动的能量来源,对保持土壤的肥力具有重要作用^[43]。碳水化合物和氨基酸是土壤中最活跃的有机碳库,是微生物生存的主要碳源^[44-45],与微生物活性显著相关^[46-47],同时也是微生物细胞的组分或代谢产物^[44],约占土壤有机质总量的 10%—20%^[48],是土壤活性有机碳库的重要组成部分^[49],可以指示 SOC 含量的变化^[50]。微生物通过分解 SOC 获取碳源,以满足微生物自身生长需求^[51]。本研究发现,31 种碳源中起主要贡献作用的是碳水化合物类和氨基酸类,且通过对 SOC 含量与土壤微生物多样性指数进行相关性分析(表 4)发现,土壤微生物多样性与 SOC 含量的具有正相关关系,说明凋落物去除与添加处理下土壤微生物群落功能多样性对 SOC 含量变化具有重要影响。但是本研究的相关性属于中等强度水平,说明凋落物去除与添加处理在短期内并未对 SOC 含量造成显著的差异。而且室内试验还有一定的局限性,不能完全反映野外的自然状态,将采回的土样过筛破坏了土壤的物理结构,可能引起底物可利用性的增加,造成外

源碳的输入对深层土壤 SOC 含量的影响被低估,未来需进一步研究原位土壤对外源碳输入的响应^[52]。

4 结论

凋落物去除与添加对 SOC 含量和土壤微生物群落功能多样性具有显著影响,但双倍凋落物处理在短期内难以产生显著作用且在一定程度上对土壤微生物的代谢活性具有抑制作用;不同处理的 SOC 含量与土壤微生物多样性具有正相关关系,且土壤微生物群落功能多样性对 SOC 含量具有重要影响。因此,未来对核桃楸—蒙古栎天然混交林的管理中应注重对凋落物的利用。

参考文献 (References):

- [1] Liski J, Nissinen A, Erhard M, Taskinen O. Climatic effects on litter decomposition from Arctic tundra to tropical rainforest. *Global Change Biology*, 2003, 9(4): 575-584.
- [2] 彭琳, 王晓君, 黄从德, 李开志. 凋落物输入改变对慈竹林土壤有机碳的影响. *水土保持通报*, 2014, 34(1): 129-132.
- [3] 周建斌, 陈竹君, 李生秀. 土壤微生物量氮含量、矿化特性及其供氮作用. *生态学报*, 2001, 21(10): 1718-1725.
- [4] Nevins C J, Nakatsu C, Armstrong S. Characterization of microbial community response to cover crop residue decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 127: 39-49.
- [5] Scheibe A, Steffens C, Seven J, Jacob A, Hertel D, Leuschner C, Gleixner G. Effects of tree identity dominate over tree diversity on the soil microbial community structure. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 81: 219-227.
- [6] 王清奎, 汪思龙, 于小军, 张剑, 刘燕新. 杉木与阔叶树叶凋落物混合分解对土壤活性有机质的影响. *应用生态学报*, 2007, 18(6): 1203-1207.
- [7] 李常准, 陈立新, 段文标, 李少然, 李亦非, 于颖颖, 朱佳慧, 赵戈榕. 凋落物处理对不同林型土壤有机碳全氮全磷的影响. *中国水土保持科学*, 2020, 18(1): 100-109.
- [8] 陈平, 赵博, 杨璐, 赵秀海, 张春雨, 闫子超. 接种蚯蚓和添加凋落物对油松人工林土壤养分和微生物量及活性的影响. *北京林业大学学报*, 2018, 40(6): 63-71.
- [9] Foster C H W. *Forests in time: the environmental consequences of 1,000 years of change in New England*. Edited by David R. Foster and John D. Aber (New Haven, Yale University Press, 2004) 496 pp. \$ 45.00. *Journal of Interdisciplinary History*, 2005, 36(2): 270-271.
- [10] Crow S E, Lajtha K, Filley T R, Swanston C W, Bowden R D, Caldwell B A. Sources of plant-derived carbon and stability of organic matter in soil: implications for global change. *Global Change Biology*, 2009, 15(8): 2003-2019.
- [11] Kuzyakov Y, Horwath W R, Dorodnikov M, Blagodatskaya E. Review and synthesis of the effects of elevated atmospheric CO₂ on soil processes: No changes in pools, but increased fluxes and accelerated cycles. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 128: 66-78.
- [12] 余涵霞, 王家宜, 万方浩, 周小燕, 蔡敏玲, 欧巧菁, 李伟华. 植物凋落物影响土壤有机质分解的研究进展. *生物安全学报*, 2018, 27(2): 88-94.
- [13] 王巍巍, 赵琼, 赵欣然, 曾德慧, 艾桂艳. 凋落物管理对樟子松人工林土壤微生物群落结构的影响. *生态学杂志*, 2005, 34(9): 2605-2612.
- [14] 万晓华, 黄志群, 何宗明, 余再鹏, 王民煌, 刘瑞强, 郑璐嘉. 改变碳输入对亚热带人工林土壤微生物生物量和群落组成的影响. *生态学报*, 2016, 36(12): 3582-3590.
- [15] Oren A, Steinberger Y. Catabolic profiles of soil fungal communities along a geographic climatic gradient in Israel. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(10): 2578-2587.
- [16] Smalla K, Wachtendorf U, Heuer H, Liu W T, Forney L. Analysis of BIOLOG GN substrate utilization patterns by microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(4): 1220-1225.
- [17] Zak J C, Willig M R, Moorhead D L, Wildman H G. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26(9): 1101-1108.
- [18] Laverman A M, Braster M, Röling W F M, Van Verseveld H W. Bacterial community structure and metabolic profiles in a forest soil exhibiting spatially variable net nitrate production. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(9): 1581-1588.
- [19] 范瑞英, 杨小燕, 王恩姮, 邹莉, 陈祥伟. 黑土区不同林龄落叶松人工林土壤微生物群落功能多样性的对比研究. *北京林业大学学报*, 2013, 35(2): 63-68.
- [20] 王珍, 曹光球, 张月全, 张海燕, 王飞, 陈爱玲. 凋落物配比对杉木土壤微生物碳代谢多样性的影响. *森林与环境学报*, 2017, 37(2): 148-154.
- [21] 薛杨, 杨众养, 陈毅青, 王小燕, 宿少锋, 林之盼, 林日武, 薛雁文. 热带滨海台地典型森林类型凋落物及土壤有机碳特征. *热带作物学报*, 2016, 37(11): 2083-2088.
- [22] 郑聚锋, 程琨, 潘根兴, Smith P, 李恋卿, 张旭辉, 郑金伟, 韩晓君, 杜彦玲. 关于中国土壤碳库及固碳潜力研究的若干问题. *科学通报*, 2011, 56(26): 2162-2173.

- [23] 胡宁, 马志敏, 蓝家程, 伍宇春, 傅瓦利, 袁红, 娄露玲. 石漠化区植被恢复过程凋落叶分解特征及其对土壤有机碳/氮的影响——以重庆中梁山为例. 中国岩溶, 2016, 35(5): 539-549.
- [24] 张晓鹏, 潘开文, 王进闯, 陈其兵. 栲-木荷林凋落叶混合分解对土壤有机碳的影响. 生态学报, 2011, 31(6): 1582-1593.
- [25] 裴蓓, 高国荣. 凋落物分解对森林土壤碳库影响的研究进展. 中国农学通报, 2018, 34(26): 58-64.
- [26] 卢胜旭, 许恩兰, 吴东梅, 陆宇明, 郭剑芬, 杨玉盛. 米槠人工林土壤微生物群落组成对凋落物输入的响应. 森林与环境学报, 2020, 40(1): 16-23.
- [27] Lyu M K, Xie J S, Vadeboncoeur M A, Wang M H, Qiu X, Ren Y B, Jiang M H, Yang Y S, Kuzyakov Y. Simulated leaf litter addition causes opposite priming effects on natural forest and plantation soils. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54(8): 925-934.
- [28] 冯雪瑾, 张志华, 杨喜田, 毕会涛, 桑玉强, 武霞震, 石岳峰. 太行山低山丘陵区人工林表层土壤有机碳和全氮分布特征. 应用生态学报, 2019, 30(2): 511-517.
- [29] 贺亮, 苏印泉, 季志平, 辛占良. 黄土高原沟壑区刺槐、油松人工林的碳储量及其分布特征研究. 西北林学院学报, 2007, 22(4): 49-53.
- [30] 阿米娜木·艾力, 常顺利, 张毓涛, 仇瑶, 何平. 天山云杉森林土壤有机碳沿海拔的分布规律及其影响因素. 生态学报, 2014, 34(7): 1626-1634.
- [31] Vogt K A, Grier C C, Vogt D J. Production, turnover, and nutrient dynamics of above- and belowground detritus of world forests. *Advances in Ecological Research*, 1986, 15: 303-377.
- [32] McClaugherty C A, Aber J D, Melillo J M. The role of fine roots in the organic matter and nitrogen budgets of two forested ecosystems. *Ecology*, 1982, 63(5): 1481-1990.
- [33] Ruess R M, Van Cleve K, Yarie J, Viereck L A. Contributions of fine root production and turnover to the carbon and nitrogen cycling in taiga forests of the Alaskan interior. *Canadian Journal of Forest Research*, 1996, 26(8): 1326-1336.
- [34] 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.
- [35] 沈萍. 微生物学. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [36] Gans J, Wolinsky M, Dunbar J. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. *Science*, 2005, 309(5739): 1387-1390.
- [37] Brussaard L, De Ruiter P C, Brown G G. Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2007, 121(3): 233-244.
- [38] 林先贵, 胡君利. 土壤微生物多样性的科学内涵及其生态服务功能. 土壤学报, 2008, 45(5): 892-900.
- [39] 姬艳艳, 张贵龙, 张瑞, 刘玉升, 杨殿林, 王彩灵. 耕作方式对农田土壤微生物功能多样性的影响. 中国农学通报, 2013, 29(6): 117-123.
- [40] 胡凯, 陶建平, 何丹妮, 黄科, 王微. 林下植物根系对森林凋落物分解过程中微生物及酶活性的影响. 应用生态学报, 2019, 30(6): 1993-2001.
- [41] Grove J A, Kautola H, Javadpour S, Moo-Young M, Anderson W A. Assessment of changes in the microorganism community in a biofilter. *Biochemical Engineering Journal*, 2004, 18(2): 111-114.
- [42] Swift M J, Heal O W, Anderson J M. *Decomposition in Terrestrial Ecosystems*. Oxford: Blackwell, 1979: 2772-2774.
- [43] 徐剑武. 莽山三种森林类型凋落物对土壤有机碳及大量养分的影响[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2014.
- [44] 张焕军, 郁红艳, 丁维新. 土壤碳水化合物的转化与累积研究进展. 土壤学报, 2013, 50(6): 1200-1206.
- [45] 傅敏, 郝敏敏, 胡恒宇, 丁文超, 翟明振, 张海依. 土壤有机碳和微生物群落结构对多年不同耕作方式与秸秆还田的响应. 应用生态学报, 2019, 30(9): 3183-3194.
- [46] Larson W E, Pierce F J, Dowdy R H. The threat of soil erosion to long-term crop production. *Science*, 1983, 219(4584): 458-465.
- [47] Rasmussen P E, Allmaras R R, Rohde C R, Roager Jr N C. Crop residue influences on soil carbon and nitrogen in a wheat - fallow system. *Soil Science Society of America Journal*, 1980, 44(3): 596-600.
- [48] 郭景恒, 朴河春, 刘启明. 碳水化合物在土壤中的分布特征及其环境意义. 地质地球化学, 2000, 28(3): 59-64.
- [49] Hu S, Coleman D C, Carroll C R, Hendrix P F, Beare M H. Labile soil carbon pools in subtropical forest and agricultural ecosystems as influenced by management practices and vegetation types. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 1997, 65(1): 69-78.
- [50] 付桃桃. 地膜覆盖和秸秆还田对农田土壤碳水化合物的影响[D]. 兰州: 兰州大学, 2015.
- [51] 廖畅, 田秋香, 汪东亚, 曲来叶, 吴宇, 刘峰. 外源碳输入对中亚热带森林深层土壤碳矿化和微生物群落的影响. 应用生态学报, 2016, 27(9): 2848-2854.
- [52] Wang Q K, Wang Y P, Wang S L, He T X, Liu L. Fresh carbon and nitrogen inputs alter organic carbon mineralization and microbial community in forest deep soil layers. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 72: 145-151.