

DOI: 10.5846/stxb202112193597

王思琪, 张利敏, 刘月, 陈羽彤. 冻融季帽儿山森林改变有机碳输入方式对土壤活性氮含量的影响. 生态学报, 2023, 43(8): 3236-3246.

Wang S Q, Zhang L M, Liu Y, Chen Y T. Effects of changing organic carbon input methods on soil reactive nitrogen content in the Maoershan forest during the freeze-thaw season. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(8): 3236-3246.

冻融季帽儿山森林改变有机碳输入方式对土壤活性氮含量的影响

王思琪, 张利敏*, 刘月, 陈羽彤

哈尔滨师范大学哈尔滨师范大学地理科学学院, 寒区地理环境监测与空间信息服务黑龙江省重点实验室, 哈尔滨 150025

摘要:根系与凋落物有机碳输入变化对土壤碳氮循环的影响已成为当前学界关注的热点, 但冻融季不同有机碳输入方式将对土壤活性氮含量产生何种影响尚不明确。为此在春季具有明显冻融作用的温带森林设立凋落物去除、根系去除处理以代表仅根系有机碳输入方式、仅凋落物有机碳输入方式, 并设置自然条件有机碳输入方式即保留根系及凋落物作为对照, 多角度探究土壤微生物量氮、矿质氮动态变化。结果表明: (1) 有机碳输入方式对土壤活性氮含量有重要影响; 与自然条件下有机碳输入方式相比, 仅根系输入处理使土壤微生物氮、总矿质氮含量升高 10.5%、12.3%。(2) 输入时长改变了有机碳输入方式对土壤活性氮含量的作用效果; 长期单一有机碳输入使土壤微生物量氮含量下降, 反应率值为 0.451、0.422。(3) 季节差异是影响有机碳输入方式对土壤活性氮含量作用效果的关键因素; 仅根系有机碳输入在冻融季使总矿质氮含量上升, 反应率值为 0.404, 生长季相反, 呈下降趋势, 其值为 0.121。以上结果表明, 有机碳输入方式对土壤活性氮含量有重要调控作用, 且作用效果会受季节、输入时长等因素影响。

关键词:土壤活性氮; 冻融季; 根系去除、凋落物去除; FAPROTAX 功能预测

Effects of changing organic carbon input methods on soil reactive nitrogen content in the Maoershan forest during the freeze-thaw season

WANG Siqi, ZHANG Limin*, LIU Yue, CHEN Yutong

Heilongjiang Province Key Laboratory of Geographical Environment Monitoring and Spatial Information Service in Cold Regions, School of Geographical Science, Harbin Normal University, Harbin 150025, China

Abstract: The effect of changes in organic carbon input from aboveground litter and belowground roots on soil active nitrogen content is currently a topical issue in academia. However, it is unclear about the influence of organic carbon input methods on soil active nitrogen content during the freeze-thaw season. The root-only organic carbon input treatment (litter removal) and the litter-only organic carbon input treatment (root removal) were measured, the root and litter retention treatment was a control group. This study investigated the dynamics of soil microbial and mineral nitrogen content. The results show that: (1) the mode of organic carbon input has a significant effect on the soil active nitrogen content. Soil microbial biomass nitrogen content in the root-only organic carbon input method and total mineral nitrogen in the root-only organic carbon input method are 10.5% and 12.3% higher than those in the control treatment, respectively. (2) The duration of input changes the effect of the organic carbon input method on the soil active nitrogen content; the long-term root-only and litter-only organic carbon input treatments decrease the soil microbial biomass nitrogen content, and the

基金项目:国家自然科学基金项目(31670619, 41101048); 黑龙江省留学归国人员科学基金项目(LC2018011); 哈尔滨师范大学硕士研究生创新项目(HSDSSCX2021-102)

收稿日期:2021-12-19; **网络出版日期:**2022-12-22

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

response rates are 0.451 and 0.422, respectively. (3) The seasonal difference is a key factor influencing the effect of organic carbon input methods on soil active nitrogen content; the litter removal during the freeze-thaw season increases the total mineral nitrogen content, while litter removal during the growing season decreases the total mineral nitrogen content, and the response rates are 0.404 and 0.121, respectively. The results highlight the importance and regulation of organic carbon inputs on soil active nitrogen content, which varies with the season and the input duration of the treatment.

Key Words: soil reactive nitrogen; freeze-thaw season; root removal, litter removal; FAPROTAX functional prediction

森林生态系统氮循环是重要的功能过程之一,对维持生态系统的平衡与稳定具有重要意义^[1]。在整个氮循环过程中,土壤活性氮素是最活跃的部分^[2-3],也最易受到外界干扰,当前森林土壤活性氮含量的动态变化已成为学界关注的热点^[1-2,4]。土壤活性氮指土壤中易于发生形态改变的氮,其主要包括微生物量氮以及经微生物矿化作用生成的铵态氮、硝态氮这两种矿质氮^[5]。矿质氮是植物根系吸收氮素的主要形态^[6],是土壤养分的重要体现。但土壤中的矿质氮易于流失,土壤微生物的吸收固存作用可将矿质氮贮藏于微生物体内形成微生物量氮。微生物固氮过程可以降低土壤矿质氮流失的风险,改善土壤供氮与植物吸氮的同步性^[7]。虽然土壤活性氮仅占土壤总氮的少部分,却在土壤氮循环过程中扮演重要角色。

生态系统中碳氮循环相互耦合^[1],碳、氮矿化过程联系密切,当前全球气候变暖背景下,森林生态系统植物生产力的变化将会改变植物有机碳输入方式之间碳分配^[8],这将影响森林生态系统的碳氮平衡。已有研究证实,有机碳输入会通过改变参与氮矿化的土壤微生物群落^[9]、有机氮底物浓度^[10]等氮循环关键步骤而对森林氮周转造成重要影响。因此深入探究有机碳输入方式与土壤活性氮含量的关系有助于更好地认识生态系统碳氮循环过程,也可以为预测未来气候变暖条件下森林生态系统土壤碳库氮库变化机制提供依据。

土壤中有有机碳的主要来源是植物根系分泌物以及凋落物淋溶腐解产生的有机质^[11],野外条件下控制有机碳输入通常需要借助植物残体添加和去除实验(DIRT)。DIRT实验是在1965年由Francis Hole博士创立^[4],他通过改变植物根系和凋落物的数量来控制土壤有机碳输入。以往研究发现,实验林地土壤条件的差异会影响土壤活性氮含量对有机碳输入控制实验的响应。Wang等^[12]在亚热带杉木林地实验发现去除凋落物后土壤活性氮含量显著降低,然而Xiong等^[13]在马占相思林地的研究结果表明土壤活性氮含量对有机碳输入方式响应并不敏感。因此,有必要在更多地区设立样地,全面了解有机碳输入方式对土壤活性氮含量的影响。此外,有机碳输入控制实验对土壤活性氮含量的作用效果存在时间尺度的差异^[14-15],这是因为启动效应存在时效性。因此,建立不同时间尺度的有机碳输入控制实验,长期监测土壤活性氮含量动态变化是十分重要的。

在温带森林生态系统中,冻融季在植被整个生长周期中占据重要地位,冻融循环可以促进下一个生长季节的氮素转化率^[16]。以往探究植物碳输入变化对氮循环影响时多集中在生长季,对冻融季时期关注较少。生长季与冻融季之间水热、理化、以及微生物群落结构等^[17-19]氮循环变化的影响因素存在巨大差异,而这几方面因素同样被认为是有机碳输入方式调控氮组分变化的关键^[20-21]。季节差异造成的环境基底的差异势必将会影响土壤活性氮对有机碳输入方式的响应,因此在讨论时不能将生长季与冻融季一概而论。究竟冻融季的何种因素才是驱动活性氮对有机碳源响应发生变化的主导因子当前尚不明确。全球升温导致根系与凋落物输入变化的同时,也会对冻融循环模式造成影响,探究冻融季有机碳输入方式对氮循环的影响,可以更好地预测未来气候条件土壤氮汇变化。

帽儿山森林是典型的温带森林生态系统,四季分明,每年3—5月份存在冻融循环现象,是多角度探究森林生态系统养分循环典型实验地。本研究在帽儿山森林生态站于2018年建立有机碳输入控制实验样地,并于2021年冻融季(3月)及生长季(7月)进行采样,探讨冻融季有机碳输入方式对土壤活性氮含量的影响。根据以往研究假设:(1)单一有机碳输入方式会因有机碳输入数量的减少而使土壤中活性氮含量降低,长期

有机碳缺失将会对土壤活性氮产生更深刻的影响(2)冻融季与生长季之间水热、理化、以及生物群落等因素的差异将会影响单一有机碳输入处理的作用效果。

1 材料与方法

1.1 研究地概况

本研究的实验样地设在帽儿山森林生态研究站,位于黑龙江省尚志市帽儿山镇东北林业大学实验林场内,平均海拔 300 m,最高海拔 805 m,属大陆性季风性气候,夏季温暖湿润,冬季寒冷干燥。全年平均温度 3.1℃,年降水量 629 mm。周围植被为天然次生林,林龄约 60 年,乔木层主要树种有春榆(*Ulmus japonica*)、水曲柳(*Fraxinus mandshurica*)、白桦(*Betula platyphylla*)等,灌木层以暴马丁香(*Synga reticulata* var. *mandshurica*)为主,草本层优势种为木贼(*Equisetum hyemale*)^[22]。

1.2 实验设计

本研究在帽儿山生态实验站碳水通量观测塔(45°25'N,127°40'E)附近林地,于 2007 年及 2018 年建立长期和短期两个有机碳输入控制实验样地,两个样地立地条件相似(表 1)。

表 1 实验样地基本情况^[23—24]

Table 1 Basic characteristics of the experimental sample sites

样地类型 Sample plot types	坡度 Slope/(°)	胸高断面面积 Basal area/ (m ² /hm ²)	主要树种 Canopy vegetation composition	坡向 Slope orientation	林龄 Age/a
短期样地 Short-term sample plots	9	23.15	白桦(<i>Betula platyphylla</i>)、 春榆(<i>Ulmus japonica</i>)、 水曲柳(<i>Fraxinus mandshurica</i>)、 山杨(<i>Populus davidiana</i>)、 胡桃楸(<i>Juglans mandshurica</i>)	西北-东南	60
长期样地 Long-term sample plots	17	23.79	白桦(<i>Betula platyphylla</i>)、 五角槭(<i>Acer mono</i>)、 春榆(<i>Ulmus japonica</i>)、 水曲柳(<i>Fraxinus mandshurica</i>)、 胡桃楸(<i>Juglans mandshurica</i>)	西北-东南	60

在短期实验样地设置 4 种有机碳输入处理(图 1)。自然条件下有机碳输入方式(CK):在样地内设置 1 m×1 m 样方,并定期维护,保证样方内环境与自然状态下一致,输入量为野外条件下三年内全部凋落物及根系输入。仅根系输入方式(NL):在样地内设置 1 m×1 m 样方,并在其上方 1 m 处安置孔径为 1 mm 尼龙纱网,阻止凋落物输入,输入量为野外条件下三年内全部根系输入。仅凋落物输入方式(NR):在样地内设置 1 m×1 m 样方,在样方周围 1.5 m×1.5 m 方形区域内采用挖壕法去除活根,深至地面以下 0.7—1 m 处,并用双层塑料薄膜隔离以防止新生根系进入该区域,输入量为野外条件下三年内全部凋落物输入。无碳源输入(NLR):在样地内建立 1 m×1 m 样方,在样方周围 1.5 m×1.5 m 方形区域内挖壕法去除活根,并在距离地面 1 m 处设置尼龙网隔绝凋落物输入,无有机碳输入。

在长期实验样地设置 2 种有机碳输入处理(图 1)。仅根系输入(TNL)、仅凋落物输入(TNR),两种处理与短期实验样地处理方式一致,输入量为野外条件下 14 年全部根系输入、14 年全部凋落物输入。以上每种处理设置三个重复,每个重复之间间隔 1 m 以上。样地维护:定期清除收集筐内的凋落物,并尽量保持样地处于无人干扰的自然状态,尽可能的保证样地内仅改变了凋落物、根系输入。样方设置缺陷:样方设在树木根系附近空地,但由于样地内植被地形复杂,无法保证每一个样方周围地表植被完全一致。

1.3 取样与测定方法

本实验于 2021 年冻融季(3 月)、生长季(7 月),2 次取样。采样时用直径 5 cm 的土钻在每个样方 0—10

cm 表层土壤随机六点取样混合后装入自封袋中,每次取样共计 18 袋土样。将采回土样一部分放入 4℃ 冰箱避光保存,用于土壤微生物量碳氮以及矿质氮测定;一部分挑去肉眼可见的植物残体及其他杂质后风干,用粉碎机磨细过 20 目筛,用于测定土壤理化因子,一部分-80℃ 保存用于土壤细菌微生物测定。

土壤活性氮测定方法:土壤铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)使用连续流动分析仪(SKALAR San++, Skalar, 荷兰)测定^[8];矿质氮含量则由土壤铵态氮、硝态氮含量相加所得;土壤微生物量氮(MBN)采用氯仿熏蒸法提取测定^[25]。

土壤水热因子测定方法:土壤含水率(SM)采用烘干法测得^[26],土壤温度(Temp)采用数显式温度计测量 10 cm 处土壤温度。

土壤理化因子测定方法:土壤可溶性碳(DOC)、全氮(TN)、全碳(TC)使用元素分析仪(Vario EL III, Elementar, Heraeus, 德国)测定^[27];土壤碳氮比(C:N)用全碳与全氮的比值计算所得;土壤微生物量碳(MBC)采用氯仿熏蒸法提取测定^[28],土壤微生物量碳氮比(MBC:MBN)则由土壤微生物量碳与土壤微生物量氮的比值计算所得,土壤 pH 采用酸度计法(Mettler Toledo Delta320, Greifensee, 瑞士)测定。

土壤活性氮及理化因子均委托中科院东北地理与农业生态研究所测定,具体详见表 2。

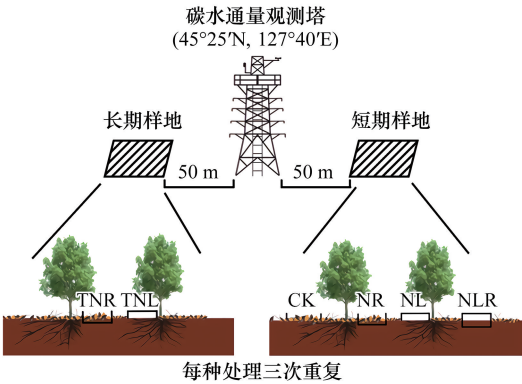


图 1 实验样地位置及示意图

Fig.1 Location and diagram of the experimental sample sites

TNL: 长期仅根系输入; TNR: 长期仅凋落物输入; CK: 对照 Control; NL: 仅根系输入 Root-only organic carbon input treatment; NR: 仅凋落物输入 Litter-only organic carbon input treatment; NLR: 无碳源输入 No organic carbon input treatment

表 2 不同有机碳输入方式、季节之间土壤水热及理化性质差异

Table 2 Differences in soil hydrothermal and physicochemical properties between different organic carbon input methods, between different seasons

		水热因子 Hydrothermal factors		理化因子 Physicochemical factors			
		SM/%	Temp/℃	MBC:MBN	DOC/ (mg/kg)	C:N	pH
处理 Treatment	CK	140.78±53.31a	7.08±8.32a	5.13±2.79a	3463.67±2216.66a	12.29±0.99a	5.73±0.50a
	NL	176.22±113.62a	7.72±8.63a	4.87±2.31a	3951.33±2275.32a	12.33±0.88a	5.71±0.50a
	NR	128.22±41.30a	6.83±8.26a	3.93±1.73a	3615.00±2092.84a	12.64±1.20a	5.95±0.48a
	NLR	126.98±47.63a	7.12±8.94a	4.88±1.56a	3336.5±2138.75a	12.15±1.19a	5.86±0.47a
季节 Season	冻融季	182.37±43.66A	-1.17±1.39B	2.59±0.29B	5463.33±417.22A	12.8±0.40A	6.2±0.02A
	生长季	99.2±3.10B	15.33±0.65A	7.66±0.27A	1464.00±337.53B	11.78±1.22A	5.26±0.20B

SM:含水量 Soil moisture;Temp 土壤温度 Temperature; MBC:MBN:土壤微生物量碳氮比 Microbial biomass carbon/nitrogen;DOC:可溶性有机碳 Dissolved organic carbon;C:N:碳氮比 Ratio C/N;CK:对照 Control;NL:仅根系输入 Root-only organic carbon input treatment;NR:仅凋落物输入 Litter-only organic carbon input treatment;NLR:无碳源输入 No organic carbon input treatment;表中数据为平均值±标准差;不同小写字母表示不同处理土壤水热、理化因子在 0.05 水平下差异显著,不同大写字母表示不同季节土壤水热、理化因子在 0.05 水平下差异显著

土壤微生物功能预测方法:使用提取试剂盒(PowerSoil DNA Isolation Kit, MoBio)从 0.25 g 土壤中提取 DNA,利用细菌序列覆盖率较高的 16 S rRNA 基因 V4—V5 区,用条码引物(515F5'-GTGCCAG CMGCCGCGGTAA-3')和(926R5'-CCGTCAATTCMTTGTGAGTTT-3')进行扩增。由上海欧易生物医学科技有限公司完成 Illumina MiSeq 2×300BP 高通量测序和生物信息学分析^[29]。根据细菌操作分类单元(OTUs)相对丰度及注释信息使用 FAPROTAX 数据库预测土壤微生物功能^[30],共获得 49 种功能分组,占全部序列的 39.2%,将平均丰度小于 0.5%的功能类群归为其他功能,具体详见图 2。

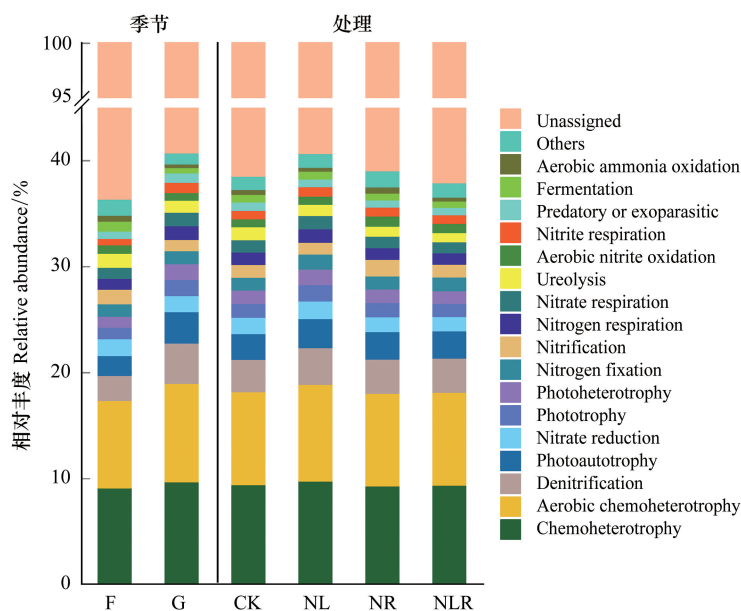


图2 基于 FAPROTAX 预测土壤细菌功能组分相对丰度

Fig.2 Relative abundance of soil bacterial function groups predicted with the FAPROTAX tool

F:冻融季 Freeze-thaw season; G:生长季 Growing season

1.4 数据处理

使用 SPSS25.0 对不同有机碳输入方式之间土壤活性氮含量进行单因素方差分析及图基检验 (TukeyHSD) 分析差异性;采用皮尔逊相关分析法分析土壤活性氮与土壤水热因子、环境因子以及与细菌功能丰度的相关性。

通常采用实验组与对照组的平均结果之比,以评估该实验对目标变量的影响程度即反应率 (R)^[31],考虑到 $\ln R$ 受分子与分母的影响更均匀,且在样本数较小的情况下分布更加正态,因此本研究使用 $\ln R$ 来评估有机碳输入方式对土壤活性氮的影响,计算公式如下^[32]:

$$\ln R = \ln X_i - \ln X_c$$

其中, X_i 为有机碳输入处理土壤活性氮含量平均值, X_c 为对照处理土壤活性氮含量平均值。

2 结果与分析

2.1 有机碳输入方式对土壤活性氮含量的影响

有机碳输入方式对土壤活性氮含量有重要影响。从冻融季与生长季的平均结果来看,单一有机碳输入使土壤中微生物量氮含量增加,其中仅根系输入较仅凋落物输入对微生物量氮含量的增加效果更明显,无有机碳输入使微生物量氮含量降低(图3)。

仅根系有机碳输入使土壤矿质氮含量增加,仅凋落物有机碳输入和无碳源输入均降低了土壤矿质氮含量,无有机碳输入下降程度更大(图3)。不同形态的矿质氮对有机碳输入方式的响应不同,铵态氮含量对有机碳输入方式的响应与矿质氮相似(图3)。硝态氮与矿质氮对有机碳输入方式的响应不同,仅根系有机碳输入、仅凋落物有机碳输入、无有机碳输入均降低土壤硝态氮含量,其中无有机碳输入较单一有机碳输入降低作用更明显(图3)。

2.2 输入时长与有机碳输入方式交互作用对土壤活性氮含量的影响

不同有机碳输入时长使土壤活性氮含量对有机碳输入方式的响应发生改变。当反应率 $\ln R$ 大于零时,有机碳输入方式对土壤活性氮含量有促进作用,当反应率 $\ln R$ 小于零时,有机碳输入方式则会降低土壤活性氮

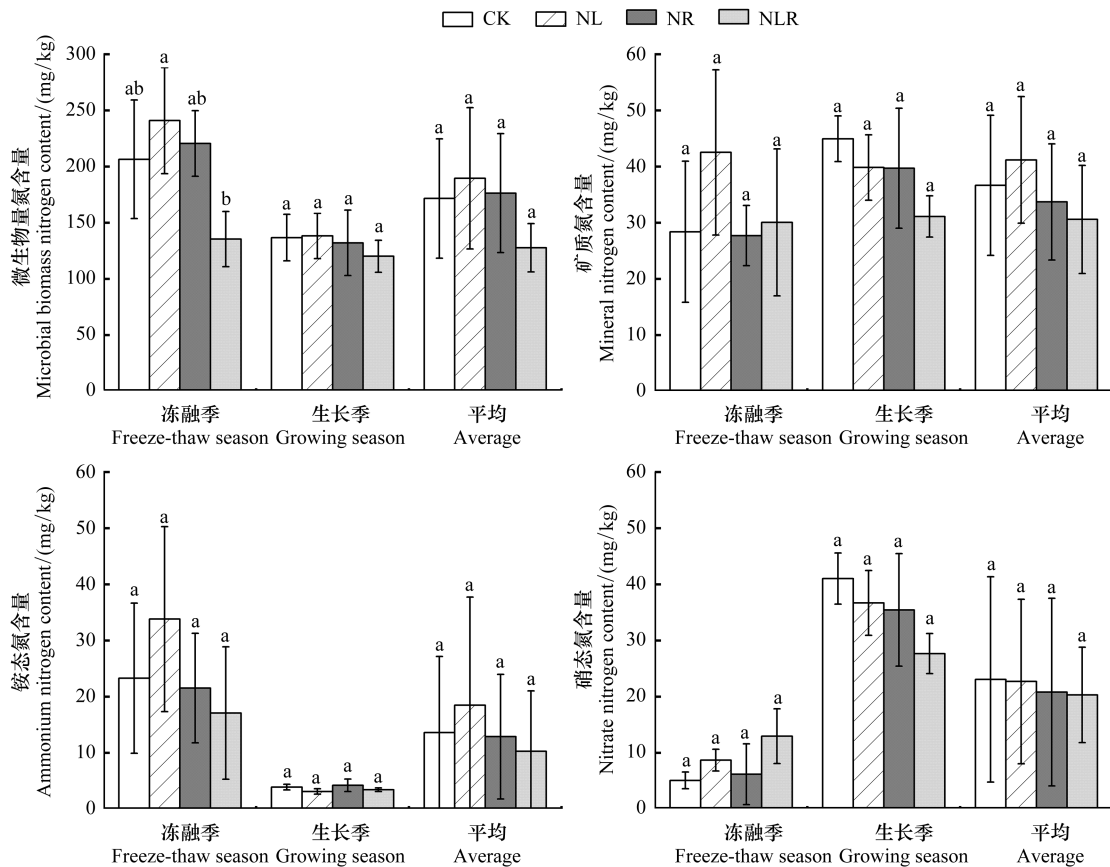


图3 不同有机碳输入方式下土壤活性氮含量

Fig.3 Soil active nitrogen content under different organic carbon input modes

图中误差线为标准差;不同小写字母表示不同有机碳输入方式间土壤活性氮含量 0.05 水平下差异显著

含量,反应率值越大,有机碳输入方式对土壤活性氮含量的作用效果越强。土壤微生物量氮含量对长期(14年)单一有机碳输入的反应率高于短期(3年),且长期单一有机碳输入会降低微生物量氮含量而短期单一有机碳输入则会使微生物量氮含量升高(图4)。

长期与短期仅根系输入处理使矿质氮、铵态氮含量上升,长期仅根系输入处理的作用效果高于短期仅根系输入处理(图4)。长期单一有机碳输入下硝态氮含量反应率高于短期,长期与短期单一有机碳输入处理均使硝态氮含量下降(图4)。

2.3 季节差异与有机碳输入方式交互作用对土壤活性氮含量的影响

冻融季有机碳输入方式对土壤活性氮含量的作用效果与生长季的作用效果存在差异。冻融季单一有机碳输入微生物量氮的反应率高于生长季(图4)。

冻融季仅根系输入处理矿质氮、铵态氮反应率高于生长季,且与生长季不同的是,冻融季的仅根系输入处理使二者含量升高(图4)。冻融季硝态氮对单一有机碳输入处理的反应率高于生长季,且使硝态氮含量上升(图4)。

2.4 土壤活性氮含量的影响因子

采用皮尔逊相关分析进一步分析土壤活性氮组分与土壤水热、理化因子之间的相关关系。

土壤水热条件对土壤活性氮含量具有显著影响,微生物量氮、铵态氮含量与SM显著正相关,与土壤温度呈显著负相关;硝态氮与之相反,与SM显著负相关,与土壤温度呈显著正相关。

土壤环境因子亦是调控土壤活性氮含量的重要因子,微生物量氮、铵态氮均与DOC、pH呈显著正相关,

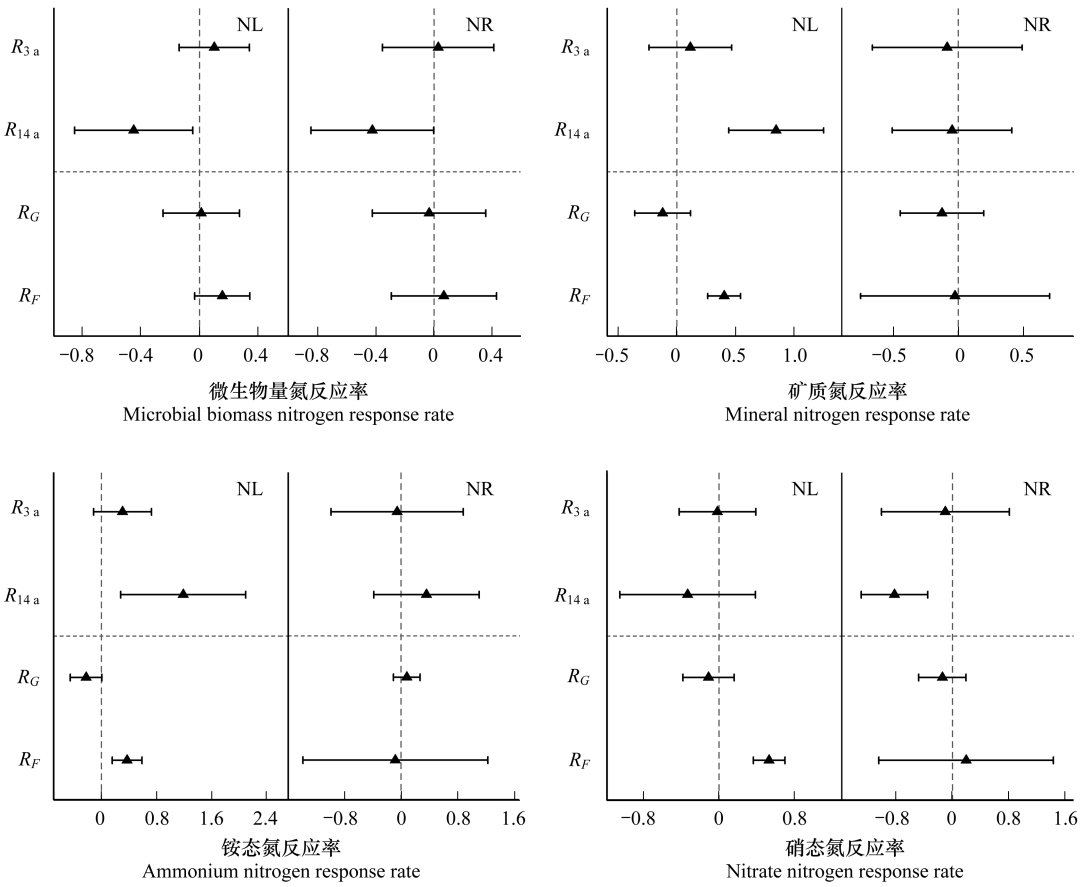


图 4 不同季节、不同输入时长下土壤活性氮含量对有机碳输入方式的反应率

Fig.4 Response rate of soil active nitrogen content to organic carbon input methods under different seasons and input durations

正负号仅代表对土壤活性氮的促进或抑制效果,无数值含义; R_{3a} 为 3 年短期碳输入方式反应率; R_{14a} 为 14 年长期碳输入方式反应率; R_G 为生长季反应率; R_F 为冻融季反应率

与 MBC:MBN 呈显著负相关;硝态氮与 DOC、pH 呈显著负相关,与 MBC:MBN 呈显著正相关;矿质氮与水热、环境因子无显著相关关系(表 3)。

表 3 土壤活性氮与水热、理化因子之间的皮尔逊相关系数

Table 3 Pearson correlation coefficient between soil reactive nitrogen and hydrothermal and physicochemical factors

	水热因子 Hydrothermal factors		理化因子 Physicochemical factors			
	SM	Temp	DOC	MBC:MBN	C:N	pH
MBN	0.775 **	-0.612 **	0.688 **	-0.653 **	0.208	0.616 **
Mineral-N	0.191	0.304	-0.198	0.330	-0.007	-0.247
NH_4^+ -N	0.826 **	-0.683 **	0.726 *	-0.709 *	0.320	0.666 **
NO_3^- -N	-0.642 **	0.889 **	-0.848 **	0.934 **	-0.301	-0.828 **

MBN:微生物量氮 Microbial biomass nitrogen; Mineral-N:矿质氮 Mineral nitrogen; NH_4^+ -N:铵态氮 Ammonium nitrogen; NO_3^- -N:硝态氮 Nitrate nitrogen; * 在 0.05 水平上显著相关; ** 在 0.01 水平上极显著相关

土壤中微生物是影响土壤活性氮含量的重要因素。皮尔逊相关分析表明土壤活性氮含量受细菌氮循环相关功能调控,微生物量氮与反硝化作用显著负相关、与硝化作用、尿素分解功能相对丰度呈显著正相关;铵态氮含量与反硝化作用呈显著负相关,与硝酸盐还原、尿素分解成显著正相关;硝态氮与反硝化作用呈显著正相关,与尿素分解显著负相关;矿质氮与土壤细菌功能丰度无显著相关(图 5)。

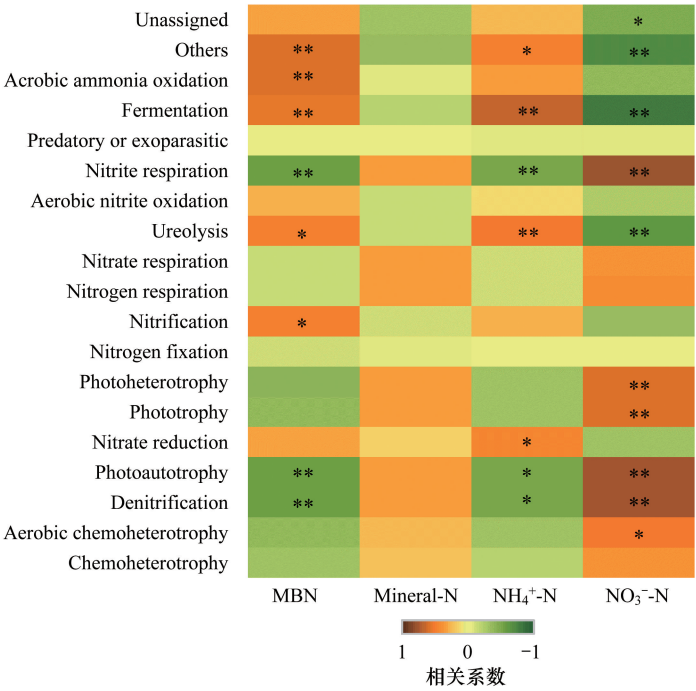


图 5 土壤活性氮与细菌功能相对丰度相关性

Fig.5 Correlation between soil active nitrogen content and the relative abundance of bacterial function groups
MBN:微生物量氮 Microbial biomass nitrogen; Mineral-N: 矿质氮 Mineral nitrogen; NH₄⁺-N: 铵态氮 Ammonium nitrogen; NO₃⁻-N: 硝态氮 Nitrate nitrogen; * 在 0.05 水平上显著相关; ** 在 0.01 水平上极显著相关;图中[-1,1]表示皮尔逊相关系数范围

3 讨论

3.1 有机碳输入方式对土壤活性氮含量的影响

土壤微生物数量与活性是土壤微生物量氮含量的重要体现,土壤微生物受养分调控敏感,有机碳输入方式可以改变土壤中的养分基质从而对土壤微生物的数量及活性产生影响。有研究认为单一有机碳输入会导致土壤中可被微生物利用的活性碳含量下降,土壤微生物量有不同程度的减少^[33]。与假设一不一致,短期单一有机碳输入增加土壤微生物量氮含量(图 3),可溶性有机碳含量与土壤微生物量氮含量对有机碳输入方式的响应一致(表 2)。去除凋落物或根系后,有机碳输入减少,地上植物为满足自身养分需要,会通过增加根系分泌物或增加植物残体分解速率等方式提升土壤养分含量,这个过程促进了土壤微生物生长繁殖。张成富等^[34]在马尾松林的研究发现,去除凋落物处理可能会改变植物的生理策略,去除凋落物后植物会通过增加根系分泌物的方式来激活更多土壤微生物参与有机质分解。白玉^[35]在研究亚热带樟木人工林时发现,去根处理会提高土壤中凋落物的利用效率。总的来说,减少有机碳输入会促进土壤微生物对残余有机碳的利用,但这种促进效果是有限制的,当同时切断土壤中根系与凋落物有机碳输入时,受养分调控敏感的微生物就会因缺失养分而大幅减少。此外,增加根系分泌与增加凋落物分解对土壤微生物量氮含量的促进效果存在差异,本研究发现仅根系有机碳输入对土壤微生物量氮含量的增加效果更明显(图 3),且仅根系有机碳输入处理的可溶性有机碳含量最高(表 2),这是由于根系分泌物较凋落物相比更易被微生物分解利用,Liu 等^[36]的研究也证实了这一点。

土壤中氮元素矿化、固定复杂的生物化学过程均离不开土壤微生物的参与^[5],土壤微生物的数量与群落结构将影响氮矿化进程。研究结果表明,土壤矿质氮与微生物量氮对仅根系有机碳输入方式的响应一致,均呈增加趋势,土壤微生物量增加促进了土壤各组分矿质氮的生成与转化。但仅凋落物有机碳输入增加微生物

量氮的同时却使矿质氮含量下降(图3)。这是因为根系与凋落物两种碳输入方式间的资源可利用性不同,仅根系与仅凋落物两种有机碳输入方式塑造的微生物群落结构也存在差异^[29],矿质氮含量受微生物量影响的同时亦受土壤中细菌群落结构所调节。矿质氮组分中的铵态氮是由有机氮经氨化反应生成,去除根系后氨化反应的底物浓度降低会导致铵态氮含量减少^[10],本研究中去根后尿素分解功能类群相对丰度减少也证明了分解有机氮能力的下降^[37](图2)。矿质氮含量下降的另一重要原因在于仅凋落物有机碳输入增加了土壤中硝化作用及反硝化作用功能类群相对丰度(图2),铵态氮在硝化细菌的作用下氧化生成亚硝酸盐、硝酸盐,硝化反应的增加使土壤中硝态氮含量上升,进而促进了土壤中反硝化作用相关细菌的生长,加速了硝态氮含量的流失,最终导致土壤矿质氮整体含量降低。但仅仅关注土壤活性氮含量的变化不能很好地解释有机碳输入方式对土壤氮循环的影响,仍需深入探究有机碳输入方式对有机氮、微生物量氮、矿质氮三者之间转化模式的影响,并通过分子手段确定土壤中养分去向及动态变化。

3.2 输入时长与有机碳输入方式交互作用对土壤活性氮含量的影响

土壤活性氮转化固存过程复杂敏感,因此需要长期观察土壤活性氮含量的动态变化。长期(14年)单一有机碳输入方式作用下土壤微生物量氮含量的反应程度大于短期(3年),且长期单一有机碳输入使土壤微生物量氮含量下降(图4)。短期单一有机碳输入处理增加根系分泌物或加速凋落物分解速率效果会随着时间的推移而逐渐减弱,Sokol等^[38]也有类似发现,根系与凋落物同时向土壤输送有机碳时存在非加性效应,短期去除凋落物向土壤输送养分含量高于对照处理。但是这种作用效果具有时效性,长期单一有机碳输入最终将导致土壤中有机碳循环速率减缓,土壤残余不易微生物分解利用的顽固性有机碳^[39],加剧了单一有机碳输入处理与对照处理间土壤养分的差距,土壤微生物量氮含量的反应更加明显。

土壤微生物固氮约占土壤中总固氮量的80%,土壤微生物对矿质氮的固存过程有着重要意义^[40]。长期仅根系有机碳输入处理养分减少,土壤微生物对养分吸收能力减弱,同化矿质氮量减少,矿质氮存留于土壤中。以上结果很好的佐证了长期改变有机碳输入方式会对土壤活性氮含量产生更深刻的影响。

3.3 季节差异与有机碳输入方式的交互作用对土壤活性氮含量的影响

冻融季土壤水热、理化、微生物等因素与生长季差异显著(表2),改变有机碳输入方式同样会改变这些因素,二者的交互作用将会对土壤活性氮含量产生重要的调控作用。与假设二一致,季节差异会影响土壤活性氮含量对有机碳输入方式响应。

冻融季的低温环境抑制了地表植物的生长发育,加剧了不同有机碳输入方式之间的养分差距,进而影响有机碳输入方式对土壤活性氮含量的作用效果。研究发现冻融季土壤微生物量氮含量对单一有机碳输入方式的响应程度高于生长季(图4),这是因为冻融季早期地表草本植物受低温抑制尚未萌发,残余的凋落物及存活根系为土壤微生物最主要的养分来源,有机碳输入方式的改变直接影响了该时期土壤微生物所需的养分含量,因此冻融季土壤微生物量强烈变化。生长季地表植物生长旺盛,补偿了缺失的养分,削弱了单一有机碳输入的影响。加之乔木植物存在化感作用^[41],根系和凋落物的存在会抑制其他地表植物的萌发和生长,去除根系和凋落物后解除了这种限制,在生长季促进了地面植物的生长发育,缓解了不同有机碳输入方式间的养分输送差异。因此,冻融季土壤微生物量氮含量对有机碳输入方式反应率高于生长季。

冻融季特殊的水热条件是影响有机碳输入方式对矿质氮含量作用效果的重要因素之一。冻融季仅根系输入矿质氮的反应率高于生长季,去除凋落物后阳光直射地表,土壤温度相对其他处理较高。冻融季低温环境下,氮矿化更易受到温度变化的影响,对去除凋落物的响应更强烈。氮矿化过程是一个复杂的酶促反应过程,低温可能导致酶促反应步骤较多,需要的活化能也更高,因此冻融季矿质氮含量对温度升高敏感^[42]。此外,宗宁等^[43]认为土温的升高往往伴随着含水量的降低,这将抵消部分增温对土壤氮矿化产生的促进效果,而冻融季地表积雪融化土壤水分充裕,解除了这种限制,氮矿化过程对增温响应更加强烈。加之,冻融期土壤温度在0℃上下波动,微弱的温度变化就会导致土壤孔隙中水分相态变化,温度变化通过改变土壤水分的流动性调节土壤养分的扩散^[44],影响微生物养分获取与活性,进而影响各组分矿质氮转化。

季节差异与改变有机碳输入方式对土壤活性氮含量的影响可能不是单一协同或拮抗作用,而是多维的效应。本研究发现冻融季的硝化作用低于生长季时期(图 2)。冻融季地表温度的升高会促进积雪融化进入土壤,去除凋落物使地表增温的同时也会减少对雪水的拦截作用,增加雪水进入土壤的几率,大量雪水占据了土壤的孔隙,土壤通气性下降,抑制了好氧的硝化作用^[45],因此冻融季铵态氮含量在总矿质氮中占比较高,铵态氮在冻融季的响应更强烈。厌氧环境对反硝化作用的增强会加速土壤矿质氮的流失,但在冻融季,地表失去凋落物的保护会增强冻融作用对土壤结构破坏,释放土壤团聚体^[46]及生物细胞^[47]中的矿质氮,两种作用同时调控矿质氮含量,最终冻融季仅根系有机碳输入矿质氮含量表现为增加趋势。

基于以上结果可以推测,未来气候变暖可能会引起土壤冻融循环模式以及植物有机碳输入改变,这将对土壤氮矿化速率以及有机质养分回归的数量和质量造成潜在影响,这些因素最终都会影响土壤氮汇。

4 结论

研究发现短期单一有机碳输入使土壤微生物量氮含量增加,但长期有机碳输入的减少将会大幅降低土壤微生物量氮含量。冻融季与生长季之间土壤活性氮含量对有机碳输入方式的响应存在差异,差异产生的原因在于冻融季特殊的水热条件以及植物生长发育状态。以上结果表明有机碳输入方式对土壤活性氮含量具有重要调控作用,且作用效果会受季节差异、输入时长等因素影响。这项研究为有机碳输入方式可能通过改变土壤中较为活跃的碳氮含量进而影响碳氮周转这一猜想提供依据,也有助于更好地预测未来气候变化下森林生态系统养分元素周转策略。但本研究对于有机碳输入方式改变将如何影响氮元素在各形态氮之间的流动探讨较浅,仍需在今后的研究中借助分子手段多角度探究土壤碳氮循环机理。

参考文献 (References):

- [1] 项文化, 黄志宏, 闫文德, 田大伦, 雷丕锋. 森林生态系统碳氮循环功能耦合研究综述. 生态学报, 2006, 26(7): 2365-2372.
- [2] Kalbitz K, Schmerwitz J, Schwesig D, Matzner E. Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties. Geoderma, 2003, 113(3/4): 273-291.
- [3] Thomas B W, Whalen J K, Sharifi M, Chantigny M, Zebarth B J. Labile organic matter fractions as early-season nitrogen supply indicators in manure-amended soils. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2016, 179(1): 94-103.
- [4] 王清奎. 碳输入方式对森林土壤碳库和碳循环的影响研究进展. 应用生态学报, 2011, 22(4): 1075-1081.
- [5] 杨小林, 李义玲, 朱波, 花可可. 紫色土小流域不同土地利用类型的土壤氮素时空分异特征. 环境科学学报, 2013, 33(10): 2807-2813.
- [6] Moreau D, Bardgett R D, Finlay R D, Jones D L, Philippot L. A plant perspective on nitrogen cycling in the rhizosphere. Functional Ecology, 2019, 33(4): 540-552.
- [7] 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.
- [8] 王军邦, 杨屹涵, 左婵, 顾峰雪, 何洪林. 气候变化和人类活动对中国陆地生态系统总初级生产力的影响厘定研究. 生态学报, 2021, 41(18): 7085-7099.
- [9] Dove N C, Stark J M, Newman G S, Hart S C. Carbon control on terrestrial ecosystem function across contrasting site productivities: the carbon connection revisited. Ecology, 2019, 100(7): e02695.
- [10] 林宝平, 何宗明, 鄧士奎, 桑昌鹏, 温秀萍, 林宇, 黄志群, 林思祖. 去除根系和凋落物对滨海沙地 3 种防护林土壤碳氮库的短期影响. 生态学报, 2017, 37(12): 4061-4071.
- [11] 贾丙瑞. 凋落物分解及其影响机制. 植物生态学报, 2019, 43(8): 648-657.
- [12] Wang Q K, Yu Y Z, He T X, Wang Y P. Aboveground and belowground litter have equal contributions to soil CO₂ emission; an evidence from a 4-year measurement in a subtropical forest. Plant and Soil, 2017, 421(1/2): 7-17.
- [13] Xiong Y M, Xia H P, Li Z A, Cai X A, Fu S L. Impacts of litter and understory removal on soil properties in a subtropical *Acacia mangium* plantation in China. Plant and Soil, 2008, 304(1/2): 179-188.
- [14] Wang Y Z, Zheng J Q, Xu Z H, Abdullah K M, Zhou Q X. Effects of changed litter inputs on soil labile carbon and nitrogen pools in a Eucalyptus-dominated forest of southeast Queensland, Australia. Journal of Soils and Sediments, 2019, 19(4): 1661-1671.
- [15] Yano Y, Lajtha K, Sollins P, Caldwell B A. Chemistry and dynamics of dissolved organic matter in a temperate coniferous forest on andic soils: effects of litter quality. Ecosystems, 2005, 8(3): 286-300.
- [16] Urakawa R, Shibata H, Kuroiwa M, Inagaki Y, Tateno R, Hishi T, Fukuzawa K, Hirai K, Toda H, Oyanagi N, Nakata M, Nakanishi A, Fukushima K, Enoki T, Suwa Y. Effects of freeze-thaw cycles resulting from winter climate change on soil nitrogen cycling in ten temperate forest ecosystems throughout the Japanese archipelago. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 74: 82-94.

- [17] Wei H, Peng C H, Yang B, Song H X, Li Q, Jiang L, Wei G, Wang K F, Wang H, Liu S R, Liu X J, Chen D X, Li Y D, Wang M. Contrasting soil bacterial community, diversity, and function in two forests in China. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1693.
- [18] 王楠, 王传宽, 邸雪颖, 全奎. 春季冻融期兴安落叶松林土壤微生物的时间动态及其影响因子. *应用生态学报*, 2019, 30(8): 2757-2766.
- [19] Guo C Y, Zhang L M, Li S G, Li Q K, Dai G H. Comparison of soil greenhouse gas fluxes during the spring freeze-thaw period and the growing season in a temperate broadleaved Korean pine forest, Changbai Mountains, China. *Forests*, 2020, 11(11): 1135.
- [20] Hicks L C, Yuan M Y, Brangari A, Rousk K, Rousk J. Increased above- and belowground plant input can both trigger microbial nitrogen mining in subarctic tundra soils. *Ecosystems*, 2022, 25(1): 105-121.
- [21] Zhang L, Yang Y L, Jiao Z B, Chen Z H, Shen Y, Liu Y, Zhang L H, Wang L X, Liu S N, Wu Q G, Li H. Response of soil net nitrogen mineralization to a litter in three subalpine forests. *Forests*, 2022, 13(4): 597.
- [22] 刘帆, 王传宽, 王兴昌. 基于塔载辐射监测帽儿山落叶阔叶林冠层叶面积指数动态. *应用生态学报*, 2016, 27(8): 2409-2419.
- [23] 孔青. 植物残体去除对帽儿山落叶林土壤碳含量和矿化的影响[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2018.
- [24] 张云宇, 孙晓凤, 张临峰, 李颖池, 王传宽, 王兴昌. 帽儿山温带落叶阔叶林细根生物量、生产力和周转率. *应用生态学报*, 2021, 32(9): 3053-3060.
- [25] Joergensen R G, Mueller T. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: Calibration of the KEN value. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(1): 33-37.
- [26] 李媛媛, 廖家辉, 许子乾, 徐涵涓, 倪娟平, 黄石德, 阮宏华. 有机肥和植被去除管理对人工林土壤节肢动物多样性的影响. *生态学报*, 2021, 41(7): 2761-2769.
- [27] 谢婷婷, 刘明辉, 袁中勋, 张松林, 李昌晓. 不同泥沙埋深对几种一年生草本枯落物分解及养分动态特征的影响. *生态学报*, 2020, 40(21): 7755-7766.
- [28] Joergensen R G. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: Calibration of the kEC value. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(1): 25-31.
- [29] Yu H M, Zhang L M, Wang Y, Xu S N, Liu Y, Wang S Q. Response of soil bacterial communities to organic carbon input under soil freeze-thaw in forest ecosystems. *European Journal of Soil Biology*, 2021, 105: 103333.
- [30] Yan G Y, Xing Y J, Han S J, Zhang J H, Wang Q G, Mu C C. Long-time precipitation reduction and nitrogen deposition increase alter soil nitrogen dynamic by influencing soil bacterial communities and functional groups. *Pedosphere*, 2020, 30(3): 363-377.
- [31] Hedges L V, Gurevitch J, Curtis P S. The meta-analysis of response ratios in experimental ecology. *Ecology*, 1999, 80(4): 1150-1156.
- [32] Xia L L, Lam S K, Wolf B, Kiese R, Chen D L, Butterbach-Bahl K. Trade-offs between soil carbon sequestration and reactive nitrogen losses under straw return in global agroecosystems. *Global Change Biology*, 2018, 24(12): 5919-5932.
- [33] 梁艺凡, 万晓华, 桑昌鹏, 王民煌, 林宇, 黄志群. 滨海防护林土壤氮组分对凋落物和根系去除的响应. *森林与环境学报*, 2019, 39(2): 127-134.
- [34] 张成富, 赵庆霞, 蔡银美, 李昕颖, 何腾兵. 凋落物输入对根系分泌物碳输入及土壤氮的影响. *森林与环境学报*, 2021, 41(3): 263-271.
- [35] 白玉. 改变碳输入对樟树人工林土壤有机碳组分的影响[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2021.
- [36] Liu X F, Lin T C, Vadeboncoeur M A, Yang Z J, Chen S D, Xiong D C, Xu C, Li Y Q, Yang Y S. Root litter inputs exert greater influence over soil C than does aboveground litter in a subtropical natural forest. *Plant and Soil*, 2019, 444(1/2): 489-499.
- [37] Eo J, Kim M H, Kim M K, Choi S K. Shift of dominant species in plant community and soil chemical properties shape soil bacterial community characteristics and putative functions: a case study on topographic variation in a mountain pasture. *Microorganisms*, 2021, 9(5): 961.
- [38] 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.
- [39] VandenEnden L, Frey S D, Nadelhoffer K J, LeMoine J M, Lajtha K, Simpson M J. Molecular-level changes in soil organic matter composition after 10 years of litter, root and nitrogen manipulation in a temperate forest. *Biogeochemistry*, 2018, 141(2): 183-197.
- [40] Li Z L, Tian D S, Wang B X, Wang J S, Wang S, Chen H Y H, Xu X F, Wang C H, He N P, Niu S L. Microbes drive global soil nitrogen mineralization and availability. *Global Change Biology*, 2019, 25(3): 1078-1088.
- [41] 李春英, 关佳晶, 李玉正, 苏伟然, 田瑶, 王婷婷, 李申, 赵春建. 南方红豆杉水浸提液对喜树种子发芽和幼苗生长的化感作用. *生态学报*, 2021, 41(4): 1564-1570.
- [42] 李光敏, 陈伏生, 徐志文, 刘娟, 张扬, 方向民, 万松泽. 间伐和林下植被剔除对毛竹林土壤氮矿化速率及其温度敏感性的影响. *生态学报*, 2019, 39(11): 4106-4115.
- [43] 宗宁, 石培礼. 模拟增温对西藏高原高寒草甸土壤供氮潜力的影响. *生态学报*, 2019, 39(12): 4356-4365.
- [44] Zhang N L, Wan S Q, Guo J X, Han G D, Gutknecht J, Schmid B, Yu L, Liu W X, Bi J, Wang Z, Ma K P. Precipitation modifies the effects of warming and nitrogen addition on soil microbial communities in northern Chinese grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 89: 12-23.
- [45] 胡仲豪, 常顺利, 张毓涛, 陈磊, 李翔. 天山林区不同类型群落土壤氮素对冻融过程的动态响应. *生态学报*, 2019, 39(2): 571-579.
- [46] 鲁博权, 臧淑英, 孙丽. 冻融作用对大兴安岭典型森林土壤活性有机碳和氮矿化的影响. *环境科学学报*, 2019, 39(5): 1664-1672.
- [47] 孙嘉鸿, 郭彤, 董彦民, 王升忠, 汪祖丞, 徐志伟. 冻融循环对金川泥炭沼泽土壤微生物量及群落结构的影响. *生态学报*, 2022, 42(7): 2763-2773.