

DOI: 10.20103/j.stxb.202208142311

李孟婷, 宋艳宇, 宫超, 高思齐, 刘桢迪, 朱梦圆, 袁佳宝, 刘吉平. 湿地土壤微生物功能多样性及碳氮组分对长期氮输入响应. 生态学报, 2023, 43(20): 8544-8555.

Li M T, Song Y Y, Gong C, Gao S Q, Liu Z D, Zhu M Y, Yuan J B, Liu J P. Response of soil microbial functional diversity and soil carbon and nitrogen components to long-term nitrogen input in wetlands. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(20): 8544-8555.

湿地土壤微生物功能多样性及碳氮组分对长期氮输入 的响应

李孟婷^{1,2}, 宋艳宇^{2,*}, 宫超², 高思齐^{2,3}, 刘桢迪^{2,3}, 朱梦圆^{2,3}, 袁佳宝^{2,3}, 刘吉平¹

1 吉林师范大学地理科学与旅游学院, 四平 136000

2 中国科学院东北地理与农业生态研究所中国科学院湿地生态与环境重点实验室, 长春 130102

3 中国科学院大学资源与环境学院, 北京 100049

摘要: 氮输入对湿地生态系统碳氮循环具有重要影响, 研究湿地土壤微生物功能多样性及碳氮组分对氮输入响应, 对于明确湿地土壤碳氮循环微生物驱动机制具有重要意义。依托长期野外氮输入模拟试验, 利用 Biolog-ECO 微平板技术, 分析不同浓度氮输入: N1 (6 g N m⁻² a⁻¹), N2 (12 g N m⁻² a⁻¹) 和 N3 (24 g N m⁻² a⁻¹) 对湿地土壤表层 (0—15 cm) 和亚表层 (15—30 cm) 微生物碳源代谢活性、功能多样性和碳氮组分的影响。结果表明: N2 处理显著提高了亚表层土壤微生物碳源代谢活性和 McIntosh 指数, N3 处理显著降低了表层土壤微生物 Shannon 指数和 Shannon-evenness 指数。随氮输入浓度增加湿地表层土壤微生物对糖类的利用率显著降低, N3 处理表层土壤微生物对胺类的利用率以及亚表层土壤微生物对醇类的利用率显著提高。N1 处理显著提高了湿地表层土壤全氮和微生物量碳含量; N2、N3 处理显著提高了土壤铵态氮、硝态氮含量; N3 处理显著降低了土壤 pH 值。湿地土壤 pH、总碳、溶解性有机碳含量是影响微生物碳源代谢活性和功能多样性的重要因素, 土壤溶解性有机碳、铵态氮、全氮含量、含水率是影响微生物碳源利用变化的主要因子。

关键词: 湿地; 氮输入; Biolog-ECO; 碳源利用; 土壤微生物多样性

Response of soil microbial functional diversity and soil carbon and nitrogen components to long-term nitrogen input in wetlands

LI Mengting^{1,2}, SONG Yanyu^{2,*}, GONG Chao², GAO Siqi^{2,3}, LIU Zhendi^{2,3}, ZHU Mengyuan^{2,3}, YUAN Jiabao^{2,3}, LIU Jiping¹

1 College of Geographical Sciences and Tourism, Jilin Normal University, Siping 136000, China

2 Key Laboratory of Wetland Ecology and Environment, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130102, China

3 College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Wetland is a huge reservoir of carbon and nitrogen and plays an important role in the global carbon and nitrogen cycling. Soil microorganisms are the main medium for organic matter decomposition and nutrient cycle. Nitrogen input has significant effects on soil nutrient, carbon and nitrogen cycling as well as soil microbial community structure and function. Therefore, to better understand the microbial driving mechanism of carbon and nitrogen cycling in wetland soil, it is crucial to clarify the characteristics of soil microbial functional diversity as well as the carbon and nitrogen components under

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41871090); 吉林省科技发展计划项目 (20210101091JC); “一带一路”国际科学组织联盟项目 (ANSO-PA-2020-14)

收稿日期: 2022-08-14; **采用日期:** 2022-12-02

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: songyanyu@iga.ac.cn

nitrogen input. The effects of different nitrogen input concentrations, including N1 ($6 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$), N2 ($12 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$), and N3 ($24 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$), on microbial carbon source metabolic activities, functional diversity, and carbon and nitrogen components in the surface (0—15 cm) and subsurface (15—30 cm) of wetland soil were examined using Biolog-ECO microplate technology based on long-term field nitrogen input simulation experiment. The results showed that the metabolic activity of soil microbial carbon source increased gradually with the extension of culture time under different nitrogen input treatments. The Shannon index, Shannon-Evenness index, and McIntosh index were significantly higher in surface soil than in subsurface soil under CK treatment. N3 treatment significantly decreased the microbial Shannon index and Shannon-Evenness index in surface soil, while N2 treatment significantly increased the microbial carbon source metabolic activity and McIntosh index in subsurface soil. There were differences in the utilization capacity and preference of soil microorganisms with different nitrogen concentrations. With the increase of nitrogen input concentration, the utilization rate of carbohydrates by microorganisms in wetland surface soil significantly decreased, while the utilization rates of amines and phenolic compounds by microorganisms in surface and subsurface soil were significantly increased under N3 treatment. The contents of total carbon, total nitrogen, and microbial biomass carbon in surface soil were significantly higher than those in subsurface soil under different nitrogen input concentrations. N1 treatment significantly increased the content of total nitrogen, total phosphorus and microbial biomass carbon in wetland surface soil. N2 and N3 treatments significantly increased soil ammonium and nitrate contents. N3 treatment significantly reduced soil pH. Soil pH, total carbon and dissolved organic carbon content were important factors affecting the metabolic activity and functional diversity of microbial carbon sources. The key variables influencing the shift in microbial carbon source utilization were soil dissolved organic carbon, ammonium nitrogen, total nitrogen content, and water content.

Key Words: wetland; nitrogen input; Biolog-ECO; carbon source utilization; soil microbial diversity

湿地仅占全球陆地面积的 5%—8%,但却是巨大的碳氮储存库,在全球碳氮循环中发挥着重要作用^[1]。大气氮沉降是全球气候变化的重要特征之一,由于化石燃料燃烧、施肥等人为活动,大气氮沉降速率较工业革命前已经增加了 3—5 倍,预计到 2050 年氮沉降速率将增加 1—2 倍,氮沉降速率的快速增加对湿地生态系统具有巨大影响^[2]。土壤微生物是湿地生态系统的重要组成部分,其在碳分解、甲烷代谢以及氮固定、硝化、反硝化等碳氮循环过程中发挥重要作用。同时,氮输入会直接或间接影响土壤微生物过程,微生物活性发生相应变化从而影响碳氮循环,进而影响湿地生态系统结构稳定性和功能完整性^[3—4]。

土壤微生物变化能够敏感的探知氮沉降背景下湿地生态系统结构功能变化^[3]。土壤微生物群落结构是土壤生态系统的重要组成部分,土壤微生物功能多样性作为土壤微生物群落组成和结构变化的重要指标,在一定程度上能够反映与预测湿地生态系统动态变化趋势^[5]。因此,大量学者开始研究氮输入对湿地土壤微生物功能多样性的影响机理^[6—9]。氮输入对湿地土壤微生物碳源代谢活性的影响主要有促进和抑制作用,有学者研究发现随着氮输入浓度的增加,土壤微生物的碳源代谢活性逐渐提高^[8],但也有学者发现随着氮输入浓度的增加,土壤微生物的碳源代谢活性逐渐降低^[10]。同时,氮输入所引起的土壤碳氮组分的变化同样吸引了大量学者的关注^[11—12],黄瑞灵等^[12]研究发现氮输入显著影响了土壤有机碳和全氮含量,但 Guan 等^[13]研究发现不同浓度氮输入处理下土壤有机碳和全氮含量没有显著差异。然而,对于长时间野外试验尺度下的研究较少,尤其是缺乏针对我国中高纬湿地土壤微生物及碳氮组分对长期氮输入的响应研究。因此,开展长期氮输入试验,对揭示长期氮富集对湿地土壤微生物群落组成、功能及碳库、氮库稳定性的影响具有重要意义。

三江平原是我国淡水沼泽集中分布区,在调节气候、维持生物多样性等方面具有不可替代的作用^[14]。三江平原大气氮沉降量约为 $7.57 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$,在生长季期间大气氮沉降为 $4.90 \text{ kg N hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ ^[15]。从农业活动中获得的淋溶氮约为 $5.8 \text{ g N m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ ^[16]。农业开垦造成三江平原农田化现象严重,排放到大气中的活性氮急剧增加,同时大量的农田排水导致过量的氮输入对湿地生态系统产生显著影响^[17]。但是,长期氮输入是否对

湿地土壤微生物碳源代谢活性、碳源利用、功能多样性以及碳氮组分产生影响? 表层和亚表层土壤微生物响应是否存在差异性尚不明确。因此,本文以三江平原典型沼泽湿地为研究对象,基于 Biolog-ECO 微平板技术研究 2011—2021 年氮输入影响下三江平原沼泽湿地表层和亚表层土壤微生物的碳源代谢活性、碳源利用和功能多样性特征以及土壤碳氮组分的变化,探讨表层和亚表层土壤微生物功能多样性与土壤碳氮组分含量的关系,为揭示长期氮富集对湿地土壤生态系统功能稳定性的影响提供理论依据和基础数据。

1 材料和方法

1.1 研究区概况

研究区位于中国科学院三江平原沼泽湿地生态试验站(47°35'N,133°31'E),本区为季节性冻土区,年无霜期 125 天左右,属于温带大陆性季风气候,海拔高度为 55.4—57.0 m,全年平均气温为 2.5℃,年均降水量在 600 mm 左右,年际变化较大,全年超过 60%的降水量集中在 6—9 月份^[18]。本区植物种类组成属于长白植物区系,主要植被有毛薹草(*Carex lasiocapa*)、乌拉薹草(*Carex meyeriana*)、漂筏薹草(*Carex pseudocuraica*)、狭叶甜茅(*Glyceria spiculosa*)和小叶章(*Calamagrostis angustifolia*)等。土壤类型主要为草甸沼泽土。

1.2 试验设计

试验设置对照 CK(0 g N m⁻² a⁻¹)和三个氮输入处理:N1(6 g N m⁻² a⁻¹)、N2(12 g N m⁻² a⁻¹)和 N3(24 g N m⁻² a⁻¹),每个处理 3 次重复,共 12 个样方,每个样方面积为 1.5 m×1.5 m,并在四周安装 0.8 m 深的隔离板,用于防止氮横向流失。各样方间设置 1 m 的隔离带,并安装通往整个试验区的木板人行道,以减少对样地的干扰。在 2011 年至 2021 年的生长季(5—9 月份)每月施用硝酸铵(NH₄NO₃)溶液,将硝酸铵溶解在 1 L 地表水中,然后用喷雾器均匀喷洒在氮输入处理样方中,同时,在对照处理样方中喷洒等量的地表水。

1.3 样品采集与分析

2021 年 8 月 29 日,根据五点采样法在每个样方用土钻分别从表层(0—15 cm)和亚表层(15—30 cm)土层采集土壤样品,去除土壤样品中植物凋落物、大石块等杂质后,装入自封袋后放入保温箱中,带回实验室。清除土壤样品中的植物根系、小石块等杂质后,利用 4 mm 的筛子对土壤样品进行筛分混合,一部分 4℃ 储存,用于测定土壤微生物碳源代谢活性(AWCD)、含水率(SMC)、pH 和铵态氮(NH₄⁺-N)、硝态氮(NO₃⁻-N)、微生物量碳(MBC)、溶解性有机碳(DOC)含量;另一部分风干后用球磨仪研磨,用于测定土壤总碳(TC)、全氮(TN)和全磷(TP)含量。

土壤微生物功能多样性采用 Biolog-ECO 微平板技术^[19]。称取 10 g 鲜土加入 90 mL 灭菌的 NaCl (0.85%)溶液,在气浴恒温振荡器上以 180 r/min 振荡 30 min 后,吸取上清液并稀释至 10⁻³倍。用 8 通道移液枪取 150 μl 加到 Biolog-ECO 板中,在 25℃ 恒温箱中培养,连续培养 10 天。采用全自动微生物鉴定系统(Biolog,美国),每隔 24 h 于 590 nm 和 750 nm 处测定其吸光度值。

光密度 OD:

$$OD = C_{590} - C_{750} - B \quad (1)$$

式中, C_{590} 和 C_{750} 分别为 590 nm 和 750 nm 处测定的吸光度值, B 为空白孔的初始值。

平均每孔颜色变化率(AWCD)表示土壤微生物群落的整体活性,可表征土壤微生物对碳源的整体利用情况:

$$AWCD = \frac{\sum_{i=1}^N OD_i}{N} \quad (2)$$

式中, OD_i 为底物孔的光密度, N 为碳源个数。

Biolog-ECO 微平板中有 31 种碳源,可分为糖类(7 种)、氨基酸类(6 种)、酯类(4 种)、醇类(3 种)、胺类(3 种)、有机酸类(8 种),共六大类。底物平均每孔颜色变化率(SAWCD)可表征微生物对某类碳源的利用情况:

$$\text{SAWCD} = \frac{\sum_{i=1}^N OD_i}{N} \quad (3)$$

式中, OD_i 为同一碳源种类内的底物孔的光密度, N 为碳源种类。

选取第 240 h 的吸光度值数据计算土壤微生物丰富度 Shannon 指数 (H)、均匀度 Shannon-evenness 指数 (E)、优势度 Simpson 指数 (D) 和多样性 McIntosh 指数 (U):

$$P_i = \frac{OD_i}{\sum_{i=1}^N OD_i} \quad (4)$$

$$H = - \sum_{i=1}^N P_i \ln P_i \quad (5)$$

$$E = \frac{H}{\ln(SR)} \quad (6)$$

$$D = 1 - \sum_{i=1}^N (P_i)^2 \quad (7)$$

$$U = \sqrt{\sum_{i=1}^N (OD_i)^2} \quad (8)$$

式中, SR 为被利用的碳源总数, P_i 是第 i 孔的颜色变化率占总颜色变化率的比例。

土壤含水率采用烘干法测定。土壤 pH (水土比 10:1) 采用酸度计 (PHS-3C 型, 上海雷磁) 测定。土壤全氮、全磷、铵态氮和硝态氮含量利用 AA3 连续流动分析仪 (Seal Analytical, 德国) 测定。土壤总碳含量采用高温燃烧法, 利用 Multi N/C 2100 型总有机碳分析仪 (Analytik Jena, 德国) 测定。土壤溶解性有机碳采用蒸馏水 (水土比 5:1) 提取, 过 0.45 μm 滤膜后, 滤液使用 Multi N/C 2100 型总有机碳分析仪测定, 总碳与无机碳含量的差值即为土壤溶解性有机碳含量^[20]。土壤微生物量碳含量采用氯仿熏蒸浸提法^[21], 利用 Multi N/C 2100 型总有机碳分析仪测定熏蒸和未熏蒸的土壤样品提取液中碳浓度, 然后用公式计算土壤微生物量碳含量:

$$\text{MBC} = Ec/0.45 \quad (9)$$

式中, Ec 为熏蒸与未熏蒸土壤样品提取液测定的有机碳之差。

1.4 数据分析

用 Excel 整理分析 Biolog-ECO 微平板吸光度值和土壤理化性质, 并计算 Biolog-ECO 微平板的 AWCD 值、功能多样性指数值、碳源利用情况; 用 SPSS 22 进行单因素方差分析和 T 检验, 分析不同浓度氮输入处理之间以及不同深度土壤微生物群落多样性指数和理化性质的差异, 重复测量方差分析用来比较不同浓度氮输入处理土壤微生物碳源代谢活性随时间变化的差异; 用 Origin 2021 对土壤微生物群落功能指标与土壤理化性质进行 Pearson 相关性分析及图形绘制; 用 Canoco 5 对不同浓度氮输入处理 6 类碳源的吸光度值与土壤理化性质进行冗余分析 (RDA)。

2 结果与分析

2.1 湿地土壤微生物群落特征对氮输入的响应

不同浓度氮输入处理下湿地土壤微生物碳源代谢活性均随培养时间的延长而逐渐增大 (图 1)。在培养 240 h 后, 氮输入处理下表层土壤微生物碳源代谢活性有降低趋势, 但提高了亚表层土壤微生物碳源代谢活性, 其中, N2 处理亚表层土壤微生物碳源代谢活性显著提高了 27.39% ($P < 0.05$)。通过对整个培养阶段进行重复测量方差分析可知, 不同时间土壤微生物碳源代谢能力差异显著 ($P < 0.01$), 并且时间和土层以及土层、氮输入和时间的交互作用也有显著影响 ($P < 0.05$) (表 1)。

对照处理表层土壤微生物 Shannon 指数、Shannon-evenness 指数和 McIntosh 指数显著高于亚表层土壤 ($P < 0.05$)。随氮输入浓度的增加, 湿地表层土壤微生物 Shannon 指数、Shannon-evenness 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数呈降低趋势, 与对照处理比较, N2、N3 处理显著降低了湿地表层土壤微生物 Shannon-evenness 指数 ($P < 0.05$), N3 处理显著降低了湿地表层土壤微生物 Shannon 指数 ($P < 0.05$)。N2 处理显著提高了亚表

层土壤微生物 McIntosh 指数($P<0.05$)(图 2)。

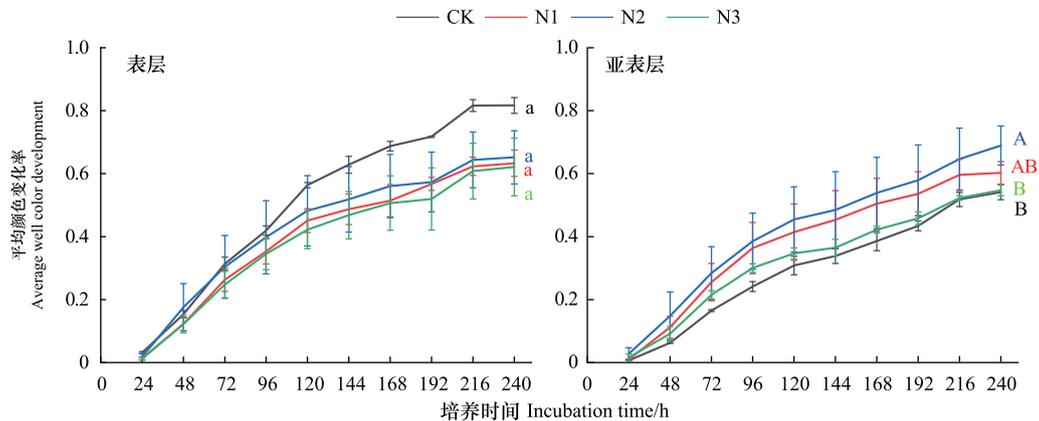


图 1 不同浓度氮输入处理下湿地土壤微生物碳源代谢活性随培养时间的变化

Fig.1 Changes of wetland soil microbial carbon source metabolic activity with culture time under different contents of nitrogen inputs

CK;对照处理;N1、N2、N3;氮输入处理;N1(6 g N m⁻² a⁻¹)、N2(12 g N m⁻² a⁻¹)、N3(24 g N m⁻² a⁻¹);平均颜色变化率;土壤微生物碳源代谢活性;不同的大小写字母分别表示亚表层和表层土壤不同浓度氮输入处理之间差异显著($P<0.05$)

表 1 整个培养阶段的重复测量方差结果

Table 1 Repeated measures variance results for the entire culture phase

效应 Effects	F	P	效应 Effects	F	P
土层 Soil layer	3.76	0.07	土层;时间 Soil layer;Time	3.96	0.00 **
氮输入 Nitrogen input	0.58	0.63	氮输入;时间 Nitrogen input;Time	1.17	0.27
时间 Time	548.26	0.00 **	土层;氮输入:时间	1.69	0.03 *
土层;氮输入 Soil layer;Nitrogen input	1.52	0.24	Soil layer :Nitrogen input;Time		

*代表 $P<0.05$, **代表 $P<0.01$

CK 处理表层和亚表层土壤微生物对糖类、胺类、有机酸类碳源的利用具有显著差异($P<0.05$)。不同浓度氮输入处理湿地表层和亚表层土壤微生物均对氨基酸类、酯类碳源利用率相对较高,分别占总碳源利用的 21.84%—27.35%、22.58%—28.40%、17.55%—22.74%、22.18%—26.72% (表 2)。氮输入能显著影响湿地土壤微生物对不同碳源的代谢活性,随氮输入浓度增加表层土壤微生物对糖类碳源的利用率显著降低,亚

表 2 不同浓度氮输入处理土壤微生物的碳源利用情况

Table 2 Carbon source utilization of soil microorganisms under different contents of nitrogen inputs

土层 Soil layers	处理 Treatment	糖类 Carbohydrates	氨基酸类 Amino acids	酯类 Polymers	醇类 Phenolic compounds	胺类 Amines	有机酸类 Carboxylic acids
表层 Surface	CK	0.19±0.02a	0.22±0.00a	0.20±0.02a	0.13±0.01a	0.13±0.01b	0.13±0.01a
	N1	0.07±0.02b	0.27±0.03a	0.18±0.03a	0.15±0.02a	0.16±0.01ab	0.17±0.02a
	N2	0.07±0.03b	0.22±0.02a	0.23±0.06a	0.19±0.02a	0.14±0.03ab	0.15±0.02a
	N3	0.04±0.03b	0.26±0.04a	0.22±0.01a	0.11±0.06a	0.21±0.03a	0.15±0.01a
亚表层 Subsurface	CK	0.05±0.01AB **	0.28±0.03A	0.25±0.04A	0.11±0.01B	0.15±0.00A *	0.16±0.01A *
	N1	0.08±0.00AB	0.23±0.03A	0.22±0.03A	0.17±0.02A	0.16±0.01A	0.14±0.03A
	N2	0.10±0.04A	0.23±0.02A	0.24±0.02A	0.14±0.01AB	0.15±0.02A	0.15±0.01A
	N3	0.03±0.01B	0.23±0.02A	0.27±0.01A	0.16±0.02A	0.14±0.01A	0.17±0.01A

表中数据为平均值±标准误;CK;对照处理;N1、N2、N3;氮输入处理;N1(6 g N m⁻² a⁻¹)、N2(12 g N m⁻² a⁻¹)、N3(24 g N m⁻² a⁻¹);不同的大小写字母分别表示亚表层和表层土壤不同浓度氮输入处理之间差异显著($P<0.05$);*表示同一处理表层和亚表层土壤微生物对六类碳源的利用情况具有显著差异(*代表 $P<0.05$, **代表 $P<0.01$)

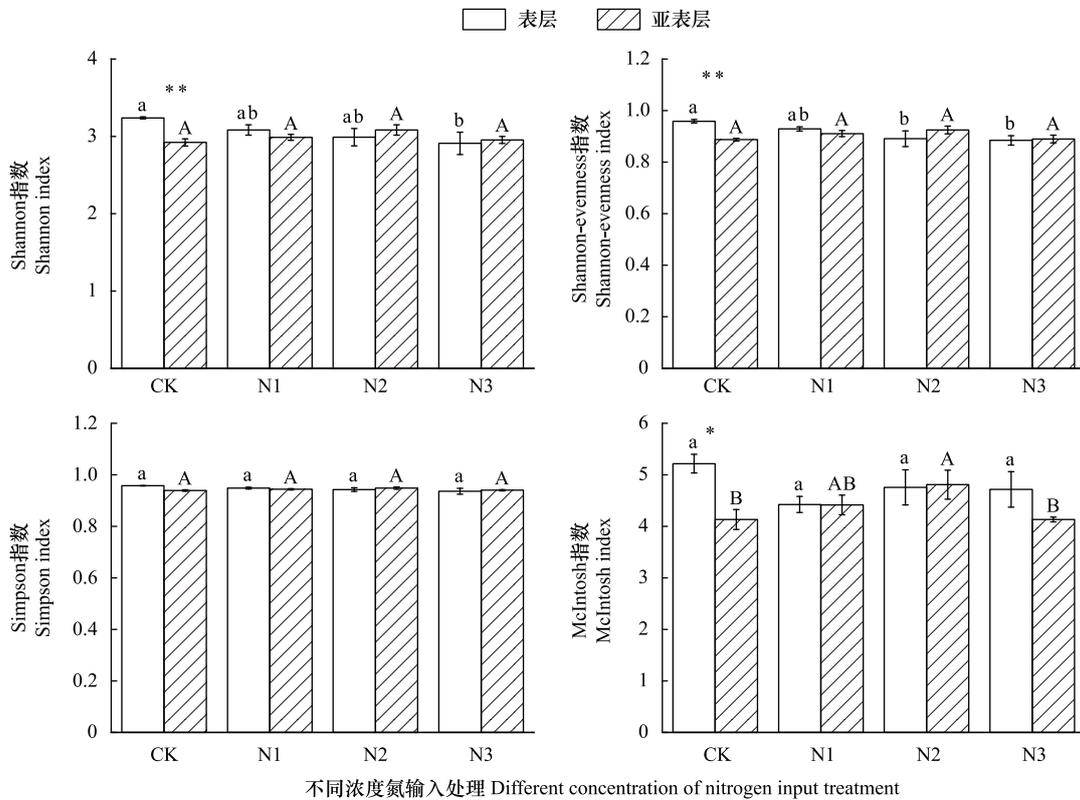


图2 不同浓度氮输入处理下湿地土壤微生物功能多样性指数的变化

Fig.2 Changes of wetland soil microbial functional diversity index under different contents of nitrogen inputs

* 表示表层和亚表层土壤微生物群落指数具有显著差异, * 代表 $P < 0.05$, ** 代表 $P < 0.01$; Shannon 指数: 土壤微生物群落丰富度; Shannon-evenness 指数: 土壤微生物群落均匀度; Simpson 指数: 土壤微生物群落优势度; McIntosh 指数: 土壤微生物群落多样性

表层土壤微生物对糖类碳源的利用率随氮输入浓度的增加先增加,在 N2 处理达到最大值 9.98% 后降低 ($P < 0.05$)。氮输入提高了亚表层土壤微生物对胺类的利用率,与对照相比,N3 处理表层土壤微生物对胺类的利用率显著提高 ($P < 0.05$)。氮输入提高了土壤微生物对醇类的利用率,其中 N1、N3 处理亚表层土壤微生物对醇类的利用率显著提高 ($P < 0.05$)。

2.2 不同浓度氮输入处理下湿地土壤碳氮组分的变化特征

不同浓度氮输入处理表层土壤总碳、全氮、微生物量碳含量均显著高于亚表层土壤总碳、全氮、微生物量碳含量 ($P < 0.01$)。CK、N1、N2 处理表层土壤铵态氮含量均显著高于亚表层土壤铵态氮含量 ($P < 0.01$), CK、N2、N3 处理表层土壤硝态氮含量均显著高于亚表层土壤硝态氮含量 ($P < 0.05$)。与对照处理相比,N1 处理导致表层土壤全氮含量显著提高了 19.84% ($P < 0.05$)。N1 处理显著提高了表层和亚表层土壤微生物量碳含量 ($P < 0.05$), N3 处理显著提高了亚表层土壤微生物量碳含量 ($P < 0.05$)。氮输入对土壤溶解性有机碳含量无显著影响,但与对照相比,N1 和 N2 处理亚表层土壤溶解性有机碳含量呈降低趋势。N2 和 N3 处理显著提高了表层和亚表层土壤铵态氮和硝态氮含量 ($P < 0.05$), 表层土壤铵态氮、硝态氮含量分别为对照处理的 10.44 倍、11.20 倍和 48.00 倍、97.27 倍,亚表层土壤铵态氮、硝态氮含量分别为对照处理的 3.98 倍、6.06 倍和 14.10 倍、17.92 倍(表 3)。

2.3 不同浓度氮输入处理下湿地土壤 pH 和含水率的变化特征

不同浓度氮输入处理湿地表层土壤 pH 值范围为 5.39—5.64,亚表层土壤 pH 值范围为 5.47—5.73。随氮输入浓度的增加,土壤 pH 值呈降低趋势,N3 处理显著降低了表层土壤 pH 值 ($P < 0.05$), N2、N3 处理显著降低了亚表层土壤 pH 值 ($P < 0.05$)。不同浓度氮输入处理湿地表层土壤含水率范围为 37%—40%,亚表层土壤

含水率范围为 24%—27%。亚表层土壤含水率显著低于表层土壤含水率 ($P < 0.01$), 不同浓度氮输入处理之间土壤含水率差异不显著 (图 3)。

表 3 不同浓度氮输入处理湿地土壤碳氮组分和全磷含量

Table 3 Contents of soil carbon and nitrogen components and total phosphorus in wetlands under different contents of nitrogen inputs

土层 Soil layers	处理 Treatment	总碳 Total carbon/ (g/kg)	全氮 Total nitrogen/ (g/kg)	全磷 Total phosphorus/ (g/kg)	微生物量碳 Microbial biomass carbon/ (mg/kg)	溶解性有机碳 Dissolved organic carbon/ (mg/kg)	铵态氮 Ammonium nitrogen/ (mg/kg)	硝态氮 Nitrate nitrogen/ (mg/kg)
表层	CK	34.76±1.03ab	6.00±0.09b	0.54±0.02b	1999.83±46.48bc	188.44±6.87a	1.57±0.18c	0.24±0.00c
Surface	N1	37.20±0.84a	7.19±0.06a	0.64±0.02a	2494.44±71.59a	180.06±7.03a	1.46±0.06c	0.91±0.24c
	N2	33.59±1.44ab	6.10±0.38b	0.58±0.01ab	2243.72±139.30ab	193.93±19.35a	16.40±0.00b	11.36±1.53b
	N3	32.51±1.42b	6.05±0.03b	0.57±0.02ab	1943.50±43.40c	186.99±10.90a	17.61±0.20a	23.02±2.68a
亚表层	CK	11.22±0.80A **	2.44±0.42A **	0.41±0.04B	604.26±40.19B **	180.58±9.87AB	0.51±0.056C **	0.16±0.02C *
Subsurface	N1	14.48±1.34A **	2.72±0.16A **	0.43±0.03AB **	827.89±2.69A **	163.28±18.62B	0.88±0.04C **	0.33±0.00C
	N2	14.28±1.55A **	2.63±0.00A **	0.52±0.07AB	525.33±97.76B **	149.00±7.02B	2.01±0.04B **	2.31±0.22B **
	N3	14.02±0.87A **	2.53±0.32A **	0.57±0.00A	1013.44±61.26A **	209.07±9.30A	3.07±0.43A	2.94±0.22A *

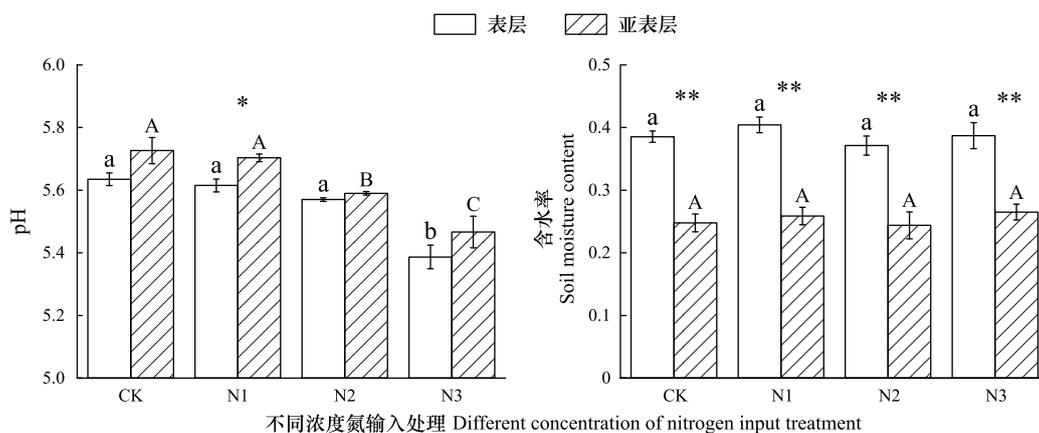


图 3 不同浓度氮输入处理湿地土壤 pH 值和含水率

Fig.3 Wetland soil pH and water content under different contents of nitrogen inputs

2.4 湿地土壤微生物多样性与土壤理化性质的相关性分析

相关性分析表明,湿地表层土壤微生物 Shannon 指数、Shannon-evenness 指数和 Simpson 指数与土壤 pH、总碳含量呈显著正相关 ($P < 0.05$), Shannon-evenness 指数与铵态氮、硝态氮含量呈显著负相关 ($P < 0.05$), McIntosh 指数与溶解性有机碳含量呈显著正相关 ($P < 0.05$)。土壤总碳含量与土壤含水率、pH、全氮、微生物量碳含量呈显著正相关,与铵态氮含量呈显著负相关 ($P < 0.05$), 土壤全氮含量与微生物量碳呈显著正相关 ($P < 0.01$), 土壤铵态氮、硝态氮与 pH 呈显著负相关 ($P < 0.01$)。亚表层土壤微生物碳源代谢活性、Shannon 指数、Shannon-evenness 指数和 McIntosh 指数与溶解性有机碳含量呈显著负相关 ($P < 0.05$), 土壤全氮含量与含水率呈显著正相关 ($P < 0.05$), 土壤铵态氮、硝态氮与 pH 呈显著负相关 ($P < 0.01$) (图 4)。

2.5 湿地土壤微生物碳源利用与土壤理化性质的冗余分析

对不同浓度氮输入处理 240 h 的湿地表层和亚表层土壤微生物六类碳源的吸光度值进行冗余分析,第一轴分别解释变异的 44.02%、46.29%,第二轴分别解释变异的 17.01%、12.08%。不同浓度氮输入处理土壤微生物对碳源的利用具有明显的空间分异,表明氮输入影响微生物碳源利用类型和能力。冗余分析得出影响湿地表层土壤碳源利用变化的主要因子是土壤溶解性有机碳、铵态氮、全氮含量,影响亚表层土壤碳源利用变化的

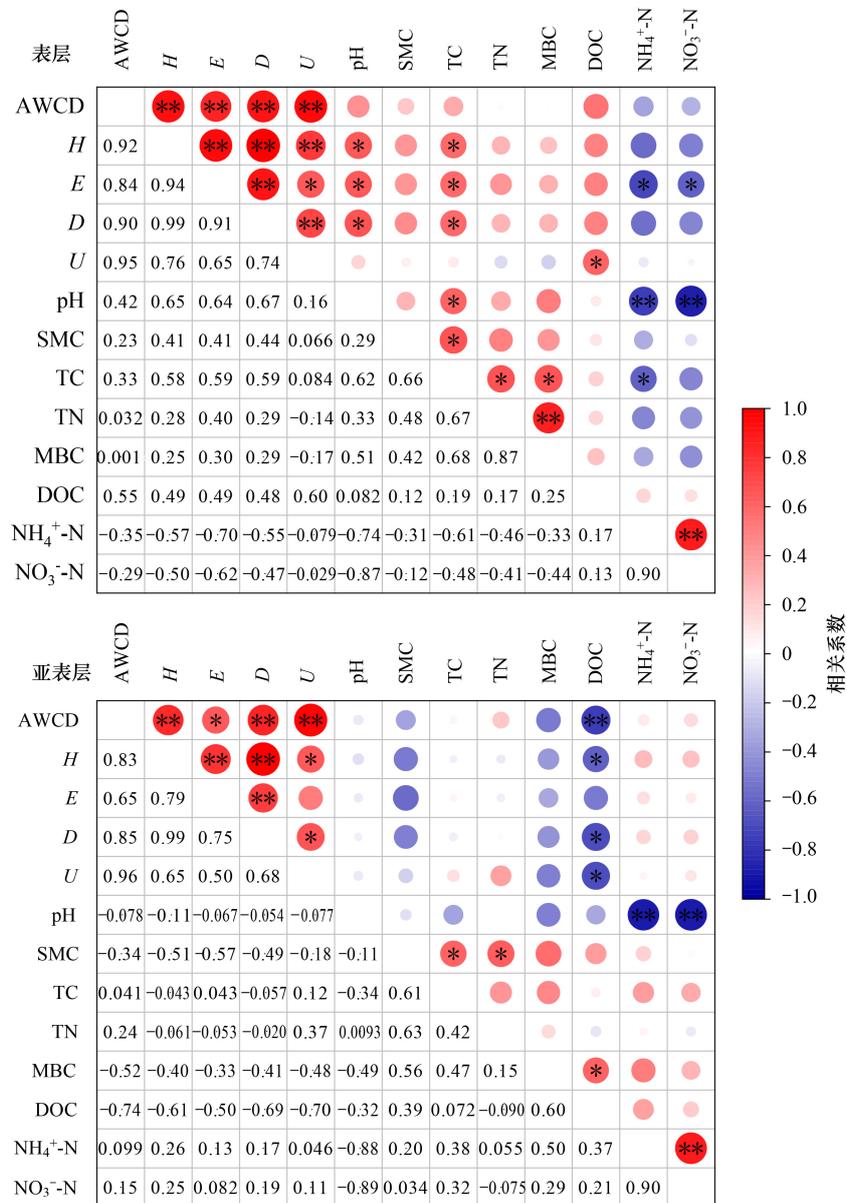


图 4 土壤微生物多样性与土壤理化性质的 Pearson 相关性分析

Fig.4 Pearson correlation analysis between soil microbial diversity and soil physical and chemical properties

* 代表 $P < 0.05$, ** 代表 $P < 0.01$; 不同颜色的不同大小的圆表示相关系数的大小; 图中不同颜色的数字代表相关系数, 红色代表正相关, 蓝色代表负相关; AWCD: 微生物碳源代谢活性 Average well color development; H: 丰富度 Shannon 指数 Shannon index; E: 均匀度 Shannon-evenness 指数 Shannon-evenness index; D: 优势度 Simpson 指数 Simpson index; U: 多样性 McIntosh 指数 McIntosh index; SMC: 土壤含水率 Soil moisture content; TC: 土壤总碳 Soil total carbon; TN: 土壤全氮 Soil total nitrogen; MBC: 土壤微生物量碳 Soil microbial biomass carbon; DOC: 土壤溶解性有机碳 Soil dissolved organic carbon; NH₄⁺-N: 土壤铵态氮 Soil ammonium nitrogen; NO₃⁻-N: 土壤硝态氮 Soil nitrate nitrogen

主要因子是土壤溶解性有机碳、铵态氮、含水率(图 5)。

3 讨论

3.1 氮输入对土壤微生物功能多样性和碳源利用的影响

土壤微生物碳源代谢活性和功能多样性对氮输入的响应模式与生态系统类型、氮输入时间、土层深度等有关^[22]。刁婵等^[23]研究长达 15 年的氮输入对亚热带森林土壤的影响表明氮输入降低了 0—10 cm 土壤微生物

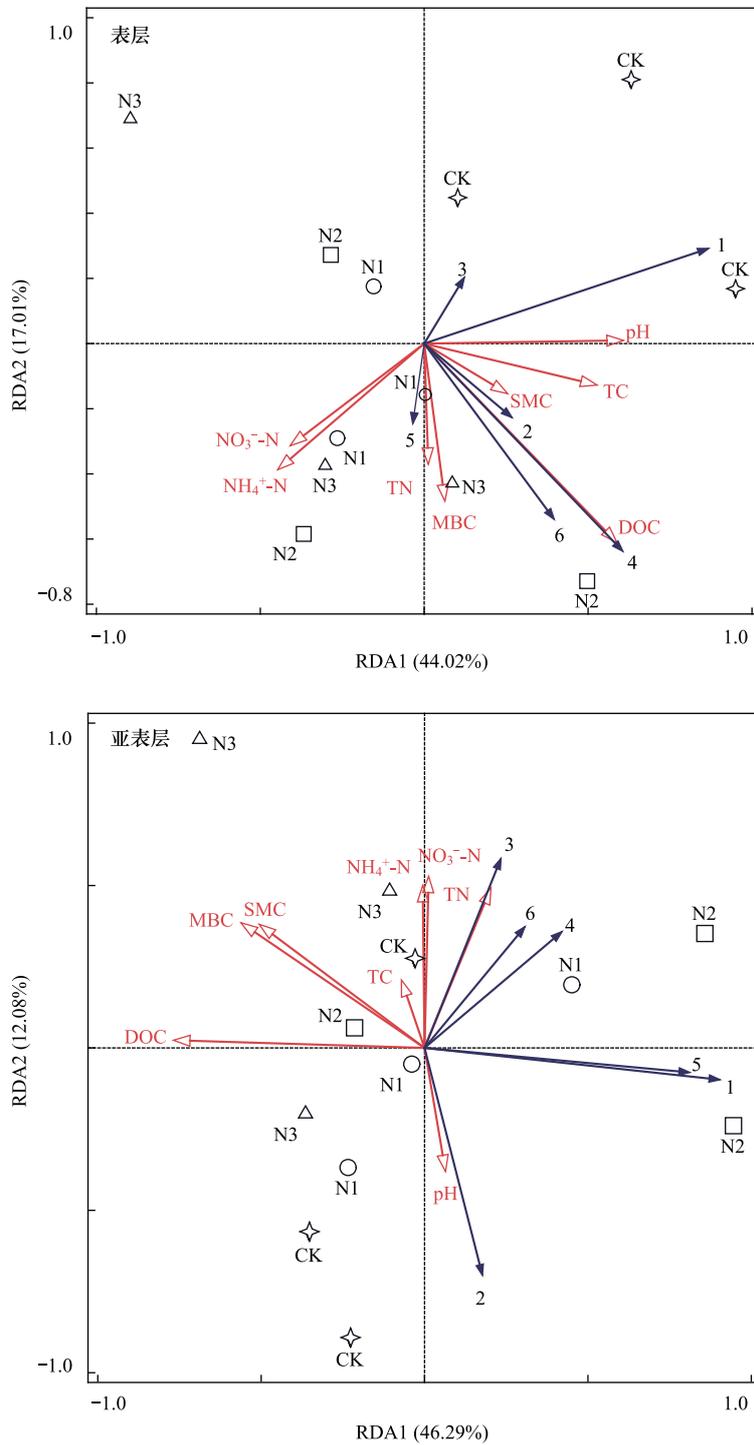


图5 不同浓度氮输入处理 6 类碳源与土壤理化性质的冗余分析

Fig.5 Redundancy analysis of six types of carbon sources and soil physical and chemical properties under different contents of nitrogen inputs

1: 糖类; 2: 氨基酸类; 3: 酯类; 4: 醇类; 5: 胺类; 6: 有机酸类

物碳源代谢活性,而隋心等^[7]研究 4 年氮输入对三江平原小叶章湿地土壤的影响则得到氮输入提高了 0—20 cm 土壤微生物碳源代谢活性的结论。在本研究中,氮输入影响下 0—15 cm 土壤微生物碳源代谢活性有降低趋势,而 15—30 cm 土壤微生物碳源代谢活性受氮输入影响而增加,说明亚表层土壤中适量的氮输入增加

了土壤微生物群落数量和活性,表层土壤大量的氮累积不利于微生物生长,降低了表层土壤微生物活性。苏丹等^[24]的研究也发现,适量氮输入促进桉树林土壤微生物碳源代谢活性,但过量的氮输入会对其产生抑制作用。表层土壤微生物 Shannon 指数、Shannon-evenness 指数都因长期高氮输入而明显降低,翁晓虹等^[10]的研究也得出了高氮处理显著降低了土壤微生物 Shannon-evenness 指数的结论,由于过量的氮输入导致土壤微生物群落的胁迫程度增加,使微生物多样性发生变化^[25],因此长期高氮累积会降低湿地土壤微生物多样性。亚表层土壤微生物碳源代谢活性和 McIntosh 指数均在 N2 处理达到最大值,有学者的研究同样发现中氮处理下土壤微生物的碳源代谢活性和多样性指数达到最大值^[26],说明适量氮输入有助于缓解氮限制,提高土壤有效氮含量,促进亚表层土壤微生物群落的代谢活性,进而增加土壤微生物多样性指数。

氮输入可改变土壤微生物对不同碳源的利用能力^[27]。吴松芹等^[8]的研究发现氮输入抑制了土壤微生物对酸类碳源的利用能力,翁晓虹等^[10]的研究发现氮输入抑制了土壤微生物对糖类、胺类碳源的利用能力。马慧君等^[28]的研究发现,高氮处理下杨树人工林土壤微生物利用酚类碳源的程度最高,低氮处理下土壤微生物对胺类碳源的利用程度最高。在本研究中,氮输入降低了表层土壤微生物对糖类碳源的利用能力,提高了亚表层土壤微生物对胺类碳源以及表层和亚表层土壤微生物对醇类碳源的利用能力。土壤微生物表现出的对不同碳源利用的差异性是受到多因素控制的,其原因是氮输入改变了土壤理化性质,土壤微生物群落对土壤环境变化和胁迫高度敏感,从而为适应环境产生了相应变化^[29]。长期氮输入改变了表层和亚表层土壤原有的养分条件,影响了微生物对养分循环转化的过程,导致微生物群落的不稳定性^[30],土壤微生物群落种类发生了变化,对不同碳源的利用也随之发生变化。

3.2 氮输入对土壤碳氮组分含量的影响

碳、氮是土壤有机质的重要组成部分,氮输入会影响土壤碳氮循环过程^[31]。本研究中,长期氮输入对湿地土壤碳氮组分含量产生了一定的影响。随氮输入浓度的增加湿地表层土壤微生物量碳含量先增加后降低,与王长庭等^[32]的研究结果类似,说明适量氮输入可以提供微生物细胞合成所必需的氮,土壤微生物量增加,过量的氮则会抑制土壤微生物活性,在本研究中,N3 处理下土壤表层微生物碳源代谢活性有降低趋势也证实了这一点。与本文研究发现的土壤铵态氮和硝态氮含量随氮输入浓度的增加而增加的结果一致,Wang 等^[22]的研究也表明长期氮输入显著提高了土壤铵态氮和硝态氮含量。表层土壤铵态氮、硝态氮含量显著高于亚表层,一方面,添加的氮主要沉积于表层土壤,另一方面,由于土壤深度的增加,降低了土壤氮矿化氮化速率及微生物硝化作用,使铵态氮、硝态氮含量降低^[33]。氮输入对湿地土壤总碳和全氮含量没有显著影响,因为氮输入既促进了地上植被的生物量及生产力,又促进了微生物对土壤有机质的分解^[34],两者的综合作用导致氮输入对土壤总碳含量没有显著影响。添加的氮可被植物吸收和微生物利用,因此对土壤全氮含量也没有显著影响。

3.3 土壤微生物群落功能多样性与土壤理化性质的关系

相关性分析表明湿地表层土壤微生物 Shannon 指数、Shannon-evenness 指数和 Simpson 指数与土壤 pH、总碳含量呈显著正相关,表明土壤 pH、总碳含量是影响湿地表层土壤微生物功能多样性的重要因子。与本文研究结果一致,刁婵等^[23]的研究也发现土壤 pH 是影响土壤微生物群落结构的重要影响因素,长期高浓度氮输入使土壤含氮量达到过饱和,导致土壤酸化、板结、毒效应可能是微生物功能多样性降低的主要原因^[35]。土壤总碳是土壤养分的重要组成部分,被土壤微生物分解利用,满足微生物代谢的营养需求^[36]。表层土壤微生物 Shannon-evenness 指数与铵态氮、硝态氮含量呈显著负相关,说明氮输入使铵态氮、硝态氮含量增加,会进一步降低土壤微生物群落均匀度。土壤溶解性有机碳是土壤活性碳组分中的重要组成部分,能直接参与土壤生物化学转化过程,也是土壤微生物能直接吸收利用的有机碳源,能够影响微生物的新陈代谢^[37]。土壤溶解性有机碳含量是影响土壤微生物碳源代谢活性与功能多样性的重要因素。亚表层土壤微生物碳源代谢活性、Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数与溶解性有机碳含量呈显著负相关,N2 处理下亚表层土壤溶解性有机碳含量最低,而土壤微生物代谢活性和 McIntosh 指数最高,说明土壤微生物可将溶解性有机碳作为其

重要的碳源,微生物活性和多样性的增加可导致土壤溶解性有机碳含量降低。

RDA 分析表明影响湿地表层土壤微生物碳源利用变化的主要因子是土壤溶解性有机碳、铵态氮、全氮含量,影响亚表层土壤微生物碳源利用变化的主要因子是土壤溶解性有机碳、铵态氮含量和含水率。土壤溶解性有机碳是土壤有机碳中的活性部分,对生态系统养分利用和转化有重要作用^[38],土壤有机碳是微生物分解的限制因素,且土壤有机碳、全氮作为土壤的主要养分,氮输入可通过提高土壤养分的有效性,引起微生物对碳源利用的变化,改变微生物群落结构和功能^[39]。氮输入增加了土壤中铵态氮含量,氮素的有效性增加导致了土壤微生物群落种类发生变化,降低了土壤微生物群落均匀度。

综上所述,长期氮输入改变了表层和亚表层土壤理化性质,微生物群落代谢特征具有明显差异。Biolog-ECO 微平板技术能够从代谢特征方面反映土壤微生物功能多样性,为全面准确地了解氮沉降背景下湿地土壤微生物群落结构与功能等信息,后续还需结合高通量测序技术进行更加详细的微生物群落分析。

4 结论

氮输入对湿地不同深度土壤微生物碳源代谢活性和功能多样性的影响具有差异:长期氮富集影响下土壤表层微生物碳源代谢活性有降低趋势,适量的氮输入提高了亚表层土壤微生物碳源代谢活性和土壤微生物多样性;高氮输入显著降低了表层土壤微生物丰富度和均匀度。氮输入改变了土壤微生物对不同碳源的利用能力和模式,随氮输入浓度增加表层土壤微生物对糖类的利用率显著降低,高氮处理表层土壤微生物对胺类的利用率以及亚表层土壤微生物对醇类的利用率显著提高。土壤 pH、总碳、溶解性有机碳含量是影响土壤微生物碳源代谢活性和功能多样性的重要因子。土壤溶解性有机碳、铵态氮、全氮、含水率是影响碳源利用变化的主要因子。本研究明确了长期氮输入影响下湿地土壤微生物功能多样性、碳源利用变化及其与土壤碳氮组分的关系,研究结果为预测未来环境变化影响下湿地土壤功能稳定性及碳氮循环微生物驱动机制提供了重要的理论依据。

参考文献(References):

- [1] William J M, Blanca B, Amanda M N, Ülo M, Li Z, Christopher J A, Sven E J, Hans B. Wetlands, carbon, and climate change. *Landscape Ecology*, 2013, 28(4): 583-597.
- [2] Galloway J N, Townsend A R, Erisman J W, Bekunda M, Cai Z C, Freney J R, Martinelli L A, Seitzinger S P, Sutton M A. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 2008, 320(5878): 889-892.
- [3] 王金爽, 胡泓, 李甜甜, 李正炎, 吕向梨. 环境因素对湿地土壤微生物群落影响研究进展. *湿地科学与管理*, 2015, 11(4): 63-66.
- [4] Ho J, Chambers L G. Altered soil microbial community composition and function in two shrub-encroached marshes with different physicochemical gradients. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 130: 122-131.
- [5] 何中声, 陈佳嘉, 朱静, 王紫薇, 谷新光, 江蓝, 陈博, 徐道炜, 吴则焰, 刘金福. 戴云山南坡不同海拔森林土壤微生物功能多样性特征及影响因素. *生态学报*, 2022, 42(9): 3504-3515.
- [6] Islam M R, Singh C P, Kim Y, Kim M, Sa T M. Community level functional diversity and enzyme activities in paddy soils under different long-term fertilizer management practices. *Biology and Fertility of Soils*, 2011, 47(5): 599-604.
- [7] 隋心, 张荣涛, 刘赢男, 许楠, 倪红伟. 模拟氮沉降对三江平原小叶章湿地土壤微生物功能多样性的影响. *草地学报*, 2016, 24(6): 1226-1233.
- [8] 吴松芹, 汪成忠, 李梦莎. 模拟氮沉降对滨海湿地土壤微生物功能多样性的影响. *土壤*, 2017, 49(6): 1153-1158.
- [9] Boeraeve M, Kohout P, Ceulemans T, Cajthaml T, Tedersoo L, Jacquemyn H. Changes in the root microbiome of four plant species with different mycorrhizal types across a nitrogen deposition gradient in ombrotrophic bogs. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 169: 108673.
- [10] 翁晓虹, 隋心, 李梦莎, 刘赢男, 张荣涛, 杨立宾. 模拟氮沉降对三江平原小叶章湿地土壤微生物碳源利用能力的影响. *环境科学*, 2022, 43(9): 4674-4683.
- [11] Bowen H, Maul J E, Cavigelli M A, Yarwood S. Denitrifier abundance and community composition linked to denitrification activity in an agricultural and wetland soil. *Applied Soil Ecology*, 2020, 151(C): 103521.
- [12] 黄瑞灵, 王西文, 马国虎, 朱锦福, 周华坤. 模拟氮沉降对高寒湿地土壤理化性质和酶活性的影响. *草地学报*, 2022, 30(6): 1343-1349.
- [13] Guan B, Xie B H, Yang S S, Hou A X, Chen M, Han G X. Effects of five years' nitrogen deposition on soil properties and plant growth in a salinized reed wetland of the Yellow River Delta. *Ecological Engineering*, 2019, 136: 160-166.
- [14] 刘兴土, 马学慧. 三江平原大面积开荒对自然环境影响及区域生态环境保护. *地理科学*, 2000, 20(1): 14-19.
- [15] 李里, 刘伟. 氮沉降和水位下降对湿地生态系统的影响. *湿地科学与管理*, 2011, 7(4): 48-52.

- [16] Zhang L H, Song C C, Wang D X, Wang Y Y. Effects of exogenous nitrogen on freshwater marsh plant growth and N_2O fluxes in Sanjiang Plain, Northeast China. *Atmospheric Environment*, 2007, 41(5): 1080-1090.
- [17] Wang Z M, Song K S, Ma W H, Ren C Y, Zhang B, Liu D W, Chen J M, Song C C. Loss and fragmentation of marshes in the Sanjiang plain, northeast China, 1954-2005. *Wetlands*, 2011, 31(5): 945-954.
- [18] 宫超, 宋长春, 谭稳稳, 张加双. 三江平原沼泽湿地垦殖对土壤微生物学性质影响研究. *生态环境学报*, 2015, 24(6): 972-977.
- [19] Németh I, Molnár S, Vaszita E, Molnár M. The biologic EcoPlate™ technique for assessing the effect of metal oxide nanoparticles on freshwater microbial communities. *Nanomaterials*, 2021, 11(7): 1777-1777.
- [20] Ghani A, Dexter M, Perrott K W. Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(9): 1231-1243.
- [21] Wu J, Joergensen R G, Pommerening B, Chaussod R, Brookes P C. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction—an automated procedure. *Soil Biology and Biochemistry*, 1990, 22(8): 1167-1169.
- [22] Wang C, Lu X K, Mori T K, Mao Q G, Zhou K J, Zhou G Y, Nie Y X, Mo J M. Responses of soil microbial community to continuous experimental nitrogen additions for 13 years in a nitrogen-rich tropical forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 121: 103-112.
- [23] 刁婵, 鲁显楷, 田静, 张永清, 莫江明, 于贵瑞. 长期氮添加对亚热带森林土壤微生物碳源代谢多样性的影响. *生态学报*, 2019, 39(18): 6622-6630.
- [24] 苏丹, 张凯, 陈法霖, 李睿达, 郑华. 施氮对不同有机碳水平桉树林土壤微生物群落碳代谢的影响. *生态学报*, 2015, 35(18): 5940-5947.
- [25] Zhang M J, Jia J Q, Lu H, Feng M C, Yang W D. Functional diversity of soil microbial communities in response to supplementing 50% of the mineral N fertilizer with organic fertilizer in an oat field. *Journal of Integrative Agriculture*, 2021, 20(8): 2255-2264.
- [26] 王顶, 伊文博, 李欢, 陈林康, 赵平, 龙光强. 玉米间作和施氮对土壤微生物代谢功能多样性的影响. *应用生态学报*, 2022, 33(3): 793-800.
- [27] 郁培义. 氮素添加对樟树和湿地松两种林分土壤微生物群落多样性的影响[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2013.
- [28] 马慧君, 张雅坤, 许文欢, 葛之葳, 阮宏华. 模拟氮沉降对杨树人工林土壤微生物群落碳源利用类型的影响. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 2017, 41(5): 1-6.
- [29] Kumar U, Shahid M, Tripathi R, Mohanty S, Kumar A, Bhattacharyya P, Lal B, Gautam P, Raja R, Panda B B, Jambhulkar N N, Shukla A K, Nayak A K. Variation of functional diversity of soil microbial community in sub-humid tropical rice-rice cropping system under long-term organic and inorganic fertilization. *Ecological Indicators*, 2017, 73: 536-543.
- [30] 刘红梅. 氮沉降对贝加尔针茅草原土壤碳氮转化及微生物学特性的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
- [31] 周莉, 李保国, 周广胜. 土壤有机碳的主导影响因子及其研究进展. *地球科学进展*, 2005, 20(1): 99-105.
- [32] 王长庭, 王根绪, 刘伟, 王启兰. 施肥梯度对高寒草甸群落结构、功能和土壤质量的影响. *生态学报*, 2013, 33(10): 3103-3113.
- [33] 贺佩, 李悦, 江明兢, 刘颖慧, 杜薇, 张家琦, 景海超. 连续氮添加 14 年对温带典型草原土壤碳氮组分及物理结构的影响. *生态学报*, 2021, 41(5): 1808-1823.
- [34] 周纪东, 史荣久, 赵峰, 韩斯琴, 张颖. 施氮频率和强度对内蒙古温带草原土壤 pH 及碳、氮、磷含量的影响. *应用生态学报*, 2016, 27(8): 2467-2476.
- [35] Feng Y Z, Grogan P, Caporaso J G, Zhang H Y, Lin X G, Knight R, Chu H Y. pH is a good predictor of the distribution of anoxygenic purple phototrophic bacteria in Arctic soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 74: 193-200.
- [36] 方圆, 姚晓东, 彭晓茜. 我国北方温带草地土壤微生物群落组成及其环境影响因素. *北京大学学报: 自然科学版*, 2017, 53(1): 142-150.
- [37] Burford J.R., Bremner J.M.. Relationships between the denitrification capacities of soils and total, water-soluble and readily decomposable soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 1975, 7(6): 389-394.
- [38] 宋长春, 张金波, 张丽华. 氮素输入影响下淡水湿地碳过程变化. *地球科学进展*, 2005, 20(11): 1249-1255.
- [39] Chakraborty A, Chakrabarti K, Chakraborty A, Ghosh S. Effect of long-term fertilizers and manure application on microbial biomass and microbial activity of a tropical agricultural soil. *Biology and Fertility of Soils*, 2011, 47(2): 227-233.