

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201409049

尤业明,王娟,黄雪蔓,等. 暖温带森林土壤微生物量、群落结构和活性对植物地下碳源的响应 [J]. 广西植物, 2016, 36(7):837-847  
YOU YM,WANG J,HUANG XM,et al. Responses of soil microbial biomass, community structure and soil enzyme to below-ground carbon change in the warm-temperate forest ecosystem [J]. *Guihaia*, 2016, 36(7):837-847

## 暖温带森林土壤微生物量、群落结构和活性对植物地下碳源的响应

尤业明<sup>1,2\*</sup>, 王娟<sup>1</sup>, 黄雪蔓<sup>2</sup>, 孙筱璐<sup>1</sup>, 唐佐芯<sup>1</sup>

(1. 北京林业大学 森林培育与保护教育部重点实验室, 北京 100083; 2. 广西大学 林学院, 南宁 530004)

**摘要:** 该研究以典型的亚热带—温带过渡区森林为对象, 采用野外过程监测和控制试验相结合的方法, 利用磷脂脂肪酸和土壤胞外酶活性分别表征土壤微生物群落结构和活性, 并结合微环境因子, 重点探究土壤微生物生物量、群落结构和活性对植物地下碳输入的响应特征。结果表明: 在观测周期内, 处理均能显著降低三组年龄段林分的土壤微生物量碳, 其变化幅度在-8.72%~-5.72%之间, 其中在 80 年的林分中降幅最大, 而在 160 年的林分中降幅最小; 微生物量氮的变化规律与相应的微生物量碳的变化规律相似, 但与对照相比其差异性均未达到显著性水平; 另外, 经壕沟处理 2~4 个月后, 所有林分的土壤微生物量碳和氮与对照相比出现增加的现象。处理均能对三组年龄段林分的土壤微生物群落结构产生不同程度的影响, 其中 40 年林分的土壤微生物群落对处理的响应程度要高于另外两个年龄段的林分; 与对照相比, 壕沟处理样方的腐生真菌的相对丰富度均下降明显, 其中在 40 年和 80 年林分中的下降幅度达到显著水平, 而细菌、放线菌和丛枝菌根真菌均无明显变化; 壕沟处理样方的水解酶( $\beta$ -葡萄糖苷酶和 N-乙酰-葡萄糖苷酶)活性均显著下降, 而氧化酶(酚氧化酶和过氧化物酶)活性的变化相对较小, 除 80 年的林分外, 其余林分均不显著。此外, 处理均不能显著影响土壤的含水量和温度。该研究结果为初步阐明全球气候变化背景下森林土壤微生物结构及其功能的变化特征以及更加精确预测未来森林土壤碳的变化趋势提供了科学依据。

**关键词:** 微生物量碳, 微生物量氮, 微生物群落结构, 土壤酶活性, 壕沟处理, 年龄序列, 暖温带森林

**中图分类号:** Q948.113; Q938.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2016)07-0837-11

## Responses of soil microbial biomass, community structure and soil enzyme to below-ground carbon change in the warm-temperate forest ecosystem

YOU Ye-Ming<sup>1,2\*</sup>, WANG Juan<sup>1</sup>, HUANG Xue-Man<sup>2</sup>, SUN Xiao-Lu<sup>1</sup>, TANG Zuo-Xin<sup>1</sup>

(1. Ministry of Education Key Laboratory for Silviculture and Conservation, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. College of Forestry, Guangxi University, Nanning 530004, China)

**Abstract:** This study focuses on the controlling mechanisms of soil microbial community structure and function to the change of below-ground carbon inputs through root-trenching experiments in a typical forest ecosystem of the subtropical and temperate transitional zone in China. By combining field investigations and manipulation experiments, phospholipid fatty acids (PLFAs) and activities of soil extracellular enzymes were studied as indicators of soil microbial community

收稿日期: 2014-09-25 修回日期: 2014-11-17

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2011BAC09B02) [Supported by National Key Technology R & D Program of China(2011BAC09B02)].

作者简介: 尤业明(1983-), 男, 广西博白人, 博士, 主要从事森林生态系统土壤碳固持调控机理研究, (E-mail) youyeming@163.com.

\* 通讯作者

structure and functioning. We also studied the response characteristics of soil microbial biomass, community structure and activities in below-ground carbon inputs. The results showed that soil microbial biomass carbon in root-trenching plots reduced significantly in an age sequence of *Quercus aliena* forest (40-year-old, 80-year-old, and >160-year-old). Integrated over the entire experimental period; the mean difference of soil microbial biomass carbon in root-trenching plots were reduced between -8.72% and -5.72%, and the highest reduction was in the 80-year-old forests, whereas the lowest decline was in the 160-year-old forests. The variation of soil microbial biomass nitrogen was similar with the changes of soil microbial biomass carbon in the forest stands of similar age, but compared with the control plots, it did not decrease significantly. In addition, compared with the control plots, the soil microbial biomass carbon and nitrogen in all forest stands increased after trench for 2 to 4 m. The root-trenching can produce different effects on soil microbial community structure in all forest stands, the response of microbial communities to the change of below-ground carbon input in 40-year-old forests were higher than the other two age groups. The relative abundances of saprotrophic fungal community in root-trenching plots was declined sharply in all stands, and it reduced significantly in 80 and 160-year-old forests compared to control. Other communities like bacteria, actinomycete and arbuscular mycorrhizal fungi changed slightly in all forest stands; the hydrolase activities (i.e.  $\beta$ -1,4-glucosidase and  $\beta$ -1,4-N-acetylglucosaminidase) in root-trenching plots decreased remarkably in the 40, 80 and 160-year-old stands, but the oxidase activity (i.e. phenol oxidase and peroxidase) was not diminish in all plots except 160-year-old stands. The root-trenching treatment had no obvious influence on soil moisture and soil temperature. By addressing the response characteristics of soil microbial biomass, community structure and function on the plant root carbon input, this study sheds light on the trends of soil microbial structure and function change under the context of global climate change. This study shows the need for more accurate prediction trends of forest soil carbon in the future.

**Key words:** microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen, microbial community structure, soil enzyme activity, trenching, chronosequence, warm-temperate forest

植物地下根系及其分泌物作为森林生态系统土壤有机碳的重要来源,输入有机碳数量和质量的差异能通过调控地下生态过程,特别是微生物对土壤有机碳转化和周转的调控过程,进而影响森林土壤有机碳的储量和稳定性。土壤有机碳的积累是一个十分缓慢的过程,但许多生态学家通过在森林生态系统中进行长期而有效地改变地下根系有机碳输入处理(The Detritus Input and Removal Treatment, DIRT),探究土壤养分、微生物群落结构以及土壤有机碳的周转过程对根系输入碳的数量和质量的响应(Schaefer et al, 2009; Elgersma et al, 2011),其处理主要包括壕沟切根(root trenching)和环割树干的韧皮部(girdling)两种。

植物根系是植物能把地面光合产物输入到土壤最直接、最有效的途径,相对于地表凋落物而言,地下根系凋亡分解后其有机碳能更有效地保存在土壤中,因而被认为是土壤有机碳的最重要来源(Kong & Six, 2010)。根系除了其凋亡和分解释放大量的碳外,根系分泌物也是构成土壤碳的重要组成部分,大概有 5%~33%的光合产物被以根系分泌物的形式输入到土壤中(Chabbi & Rumpel, 2009);然而,根

系分泌物能通过“激发效应(priming effect)”加速土壤原有的有机碳分解,而且其分解速率甚至能比原来提高 50%以上。因此,目前对根系在土壤有机碳转化和周转过程中的作用及其机理还缺乏足够的了解,这一直也是许多生态学家关注的焦点问题(Janssens et al, 2010)。通过壕沟处理或环割树干韧皮部阻断地面光合产物向地下输送,将在最大保持土壤原有结构的前提下研究地下根系及其分泌物是怎样影响土壤有机碳转化和周转提供两种可行、有效的途径(Zeller et al, 2008)。壕沟或环割处理对土壤碳的影响目前还充满争议,一些研究发现移除根系后,表层土壤碳含量降低(Kabzems & Haeussler, 2005),但短期处理对土壤碳含量的影响不大(Frey et al, 2006);此外,植物根系有机物是土壤微生物量碳的最主要来源(Kramer et al, 2010),但处理时间长短不同其微生物量碳的变化差异较大(Li et al, 2004)。此外,去除根系不仅对土壤微生物生物量产生影响,而且在一定程度上也能够改变土壤微生物群落结构和活性(Subke et al, 2004)。

本研究通过选取亚热带-温带过渡区这一典型气候敏感区作为研究区域,探究暖温带森林土壤微

生物数量、结构和活性对植物地下碳源输入的响应,是系统了解森林土壤碳输入、积累和转化过程与土壤微生物的关系、并充分认识土壤碳转化和周转过程与机制的关键基础,将为更加准确预测未来气候变化背景下森林土壤碳库的可能变化趋势,这有利于科学评估土壤碳库的未来变化轨迹,对于准确预测全球气候变化趋势并制定科学有效的应对策略与措施具有重大的现实意义。

## 1 材料与方 法

### 1.1 研究区概况

本研究区域位于我国河南省西南部、秦岭东段伏牛山南坡的宝天曼国家自然保护区内(33°35'43"~33°20'12" N, 111°46'55"~112°03'32" E),海拔 600~1 860 m,处于南暖温带向北亚热带过渡区域,属于季风型大陆性气候,年均温度为 15.1 °C,年均降雨量为 900 mm,降雨主要集中在夏季的 7 月和 8 月(55%~62%)(Liu et al, 1998; Luan et al, 2011),土壤类型为砂质岩风化而成的不饱和始成土(FAO-UNESCO 土壤分类系统),研究区域的地带性植被主要包括锐齿栎(*Quercus aliena* var. *acuteserrata*)林、短柄枹(*Q. glandulifera* var. *brevipetiolata*)林、栓皮栎(*Q. variabilis*)林等(You et al, 2014)

### 1.2 研究方法

1.2.1 试验处理 在选取三组不同年龄(大约 40 年、80 年和大于 160 年)的锐齿栎林中分别布设了试验,每组年龄段中分别设置了 3 块 20 m × 20 m 的独立样地。于 2011 年 6 月对每块 20 m × 20 m 样地进行壕沟断根处理(NR),具体操作步骤和方法描述详见 Huang et al(2014)。以不经过任何处理的样地内的实验样品作为处理的自然对照(CK)。

1.2.2 土壤样品采集 分别于 2011 年 8 月、10 月,2012 年 4 月、6 月、8 月、10 月和 2013 年 6 月进行土壤样品的采集,用土钻(内径:5 cm)采集表层(0~5 cm)土壤样品,具体操作方法:在每个处理小样方的中心上按 0°、120°和 240°方向随机选取 3 个点,合计每个样地(3 个小样方)采集壕沟处理土壤样品 9 钻,这 9 钻样品经混匀后作为一个混合样放入装有冰盒的保温箱中带回实验室,手工拣去动植物残体、石头后过 2 mm 的土壤筛,放入 -20 °C 冰柜内保存并在短期内进行测定。

1.2.3 土壤微生物生物量和群落结构的测定 土壤

微生物量碳(MBC)和氮(MBN)采用熏蒸浸提法测定。其中, $MBC = E_C/K_{EC}$ ,  $MBN = E_N/K_{EN}$ ;  $E_C$  = 熏蒸提取的有机碳-未熏蒸提取的有机碳; $K_{EC} = 0.38$ (Vance et al, 1987);  $E_N$  = 熏蒸提取的氮-未熏蒸提取的氮; $K_{EN} = 0.54$ 。

土壤微生物群落结构采用磷脂脂肪酸法进行测定。该方法的过程和分析主要依据 Bossio et al(1998)描述的测定过程和方法。利用 19:0 内标浓度计算每种磷脂脂肪酸的浓度,利用磷脂脂肪酸作为指示器对微生物类群进行归类,具体的归类方法详见 You et al(2014)。

1.2.4 土壤酶活性分析 本研究通过测定四种胞外酶活性来评价微生物在土壤碳转化和周转中的功能,分别是水解酶,包括纤维素水解酶( $\beta$ -1, 4-葡萄糖苷酶)、几丁质降解酶(N-乙酰-葡萄糖苷酶);氧化酶,即木质素降解酶(酚氧化酶、过氧化物酶)。用 *p*-硝基苯酚(*p*-nitrophenol)来评估  $\beta$ -葡萄糖苷酶活性(BG; EC: 3.2.1.21)和 N-乙酰-葡萄糖苷酶活性(NAG; EC: 3.2.1.30)的大小,酚氧化酶活性和过氧化物酶活性采用 L-DOPA(1-3, 4-dihydroxyphenylalanine, 左旋多巴胺)作为反应基质测定(Sinsabaugh et al, 1993),主要分析过程和方法的描述详见 You et al(2014)。

### 1.3 数据分析

采用统计分析软件 SPSS 17.0(SPSS Inc., Chicago, IL)对数据进行统计和方差分析(ANOVA),并用最小显著差异法(LSD)进行差异显著性检验,差异显著性水平为  $P < 0.05$ 。在多元统计分析软件 Canoco for Windows 4.5(Biometris-Plant Research international, Wageningen, The Netherlands)上采用主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)检验壕沟处理对土壤微生物群落结构变异程度;作图在软件 Sigma Plot 10.0 上完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 壕沟处理对土壤微环境和微生物量碳氮的影响

在整个实验观察周期内,壕沟处理没有显著影响表层土壤(0~5 cm)的温度和含水量( $P > 0.05$ )。与对照相比,处理的表层土壤含水量升高(1.5%~2.3%),温度几乎不变(图 1)。对照和处理样方的土壤微生物量碳和氮含量均随季节波动较大,其最大值一般出现在生长旺季的 8 月份,而最小值通常

出现在非生长季的4月份或生长季早期的6月份(图2)。在实验观察周期内,与对照相比,处理后的表层土壤微生物量碳含量均有明显下降的趋势,但其在不同年龄的锐齿栎林中的差异程度不同。在80年的锐齿栎林中,处理的表层土壤微生物量碳含量变化幅度最大,显著下降了8.72%;其次是在40年的锐齿栎林中显著下降了8.45%;而在160年的锐齿栎林中下降最小(5.72%),但也达到了显著水平( $P < 0.05$ )。微生物量氮的变化规律与相应的微生物量碳的变化规律相似,壕沟处理后微生物量氮含量也出现了较大幅度下降,幅度在 $-7.12\% \sim -6.00\%$ 之间,但与对照相比其差异性均没有达到显著性水平( $P > 0.05$ )(图3)。

cm)样品进行磷脂脂肪酸测定,并对所提取具有代表性的23种磷脂脂肪酸进行了主成分分析(PCA)。研究结果表明:处理样方的土壤微生物群落结构与对照相比,均发生了明显的变异(图4),但在各组年龄的锐齿栎林中其响应的程度不同。

在40年的锐齿栎林中,处理样方和对照的微生物群落结构特征能被主成分轴1和主成分轴2明显分开,处理和对照样方的微生物群落结构的差异性显著,其处理样方内的腐生真菌(图5:a)、以及cy 19:0的相对百分比与对照相比均显著减少,表明壕沟处理能显著影响其表层土壤微生物群落结构。在80年和160年的锐齿栎林里,第二主成分轴能很好把处理和对照样方的微生物群落组成区分开,与对照相比80年锐齿栎林的处理样方的革兰氏阳性细菌的相对百分比显著升高(图5:b),而160年锐齿栎林处理样方的腐生真菌的相对百分比显著降低(图5:c)。

### 2.3 壕沟处理对土壤酶活性的影响

本研究表明,壕沟处理后3个年龄段的锐齿栎林的 $\beta$ -葡萄糖苷酶活性下降趋向均明显(图6:a, b, c),在整个观测周期内,壕沟处理的 $\beta$ -葡萄糖苷酶活性均显著甚至极显著下降,其活性在80年的锐齿栎林中变化最快,显著下降了44.43%,而40年的最少,但也显著下降了22.55%(图8:a);N-乙酰-葡萄糖苷酶的变化规律与 $\beta$ -葡萄糖苷酶活性相似(图6:a1, b1, c1),在整个观测周期内,其活性在40、80和160年的锐齿栎林中也分别显著下降了51.92%、34.16%和40.47%(图8:b)。壕沟处理对氧化酶活性的影响相对较少,在整个观测期间,酚氧化酶活性虽然也出现下降现象,但差异不显著。而过氧化物酶活性却出现增大现象,但除了在160年的锐齿栎林中显著增大之外,在其余两个年龄段的锐齿栎林中的变化均没达到显著水平(图8:c, d)。

## 3 讨论与结论

### 3.1 壕沟处理对土壤微生物生物量的影响

根系作为地表光合作用产物是向土壤输入的最重要、最直接的途径,而壕沟处理切断了地面光合产物通过根系向土壤输入的直接途径,使土壤表层的有机碳和氮含量降低(Tóth et al, 2007),以及可溶性碳(DOC)含量也出现减少的现象(Chen et al, 2010),这就可能大大减少了土壤微生物生长和繁

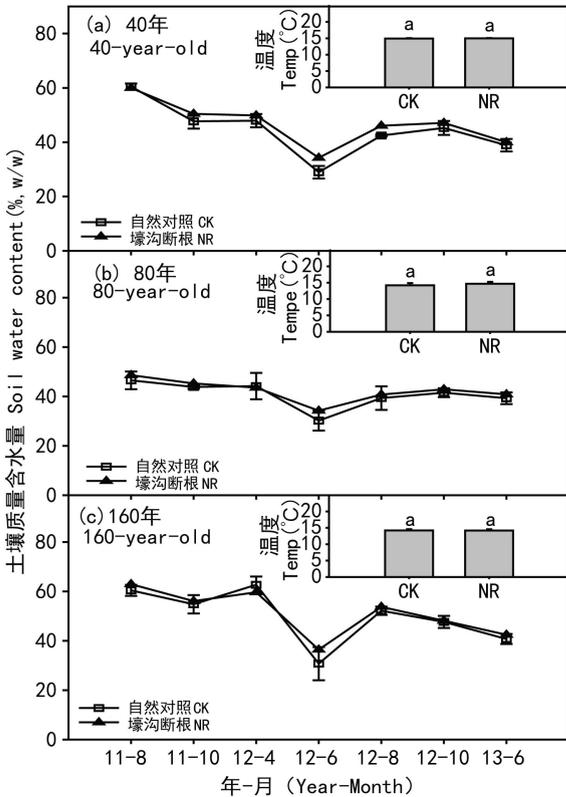


图1 对照和处理样方表层土壤(0~5 cm)的含水量和温度变化(2011年8月至2013年6月) 平均值 $\pm$ 标准误差,  $n=3$ ; CK. 自然对照; NR. 壕沟断根。下同。

Fig. 1 Soil water content (w/w) and temperature change in 0~5 cm depth of 40, 80 and 160-year-old stands between control and root trench plots from August 2011 to June 2013 Values are mean  $\pm$  SE,  $n=3$ . CK. Control; NR. Root trench. The same below.

### 2.2 壕沟处理对土壤微生物群落结构的影响

2012年8月,对对照和处理的表层土壤(0~5

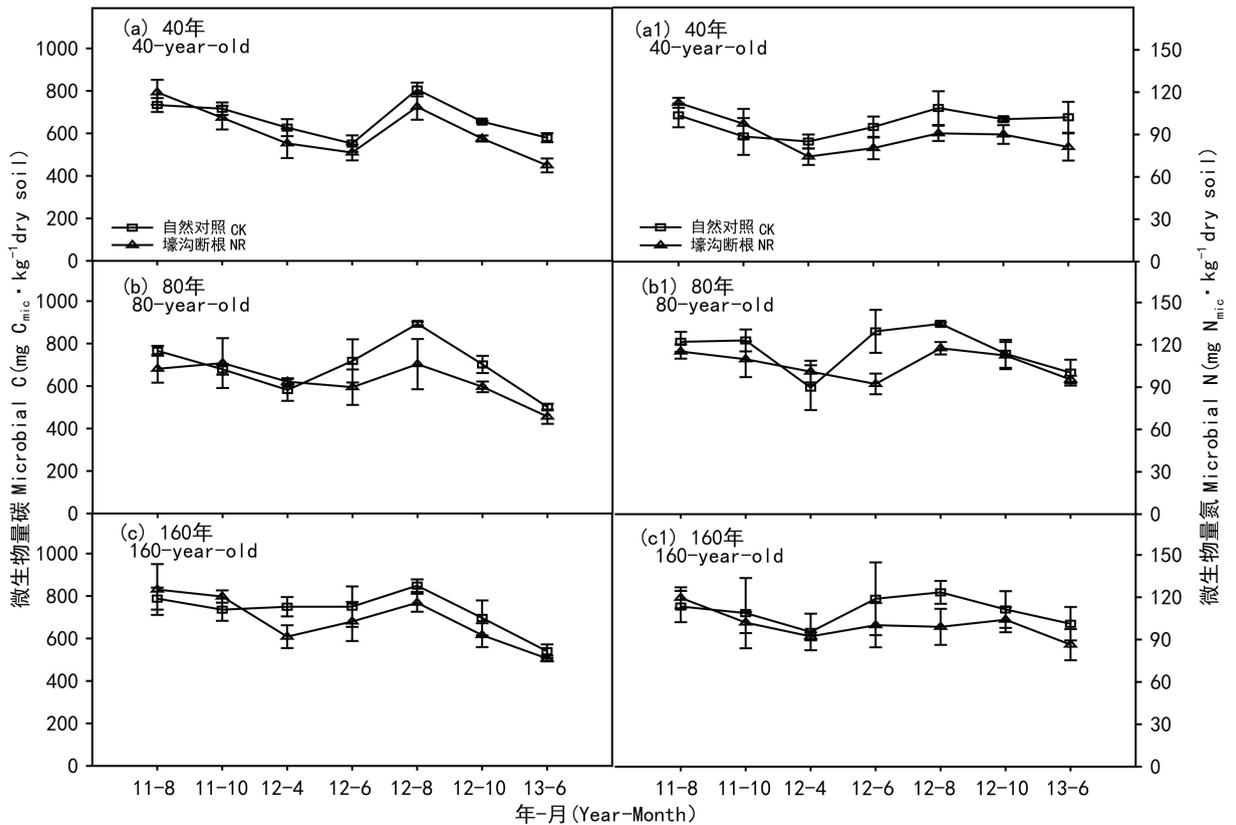


图 2 对照和处理样方表层土壤(0~5 cm)的土壤微生物量碳和氮的变化(2011年8月至2013年6月)

Fig. 2 Soil microbial biomass carbon and nitrogen changed in 0~5 cm depth of 40, 80 and 160-year-old stands between control and root trench plots from August 2011 to June 2013

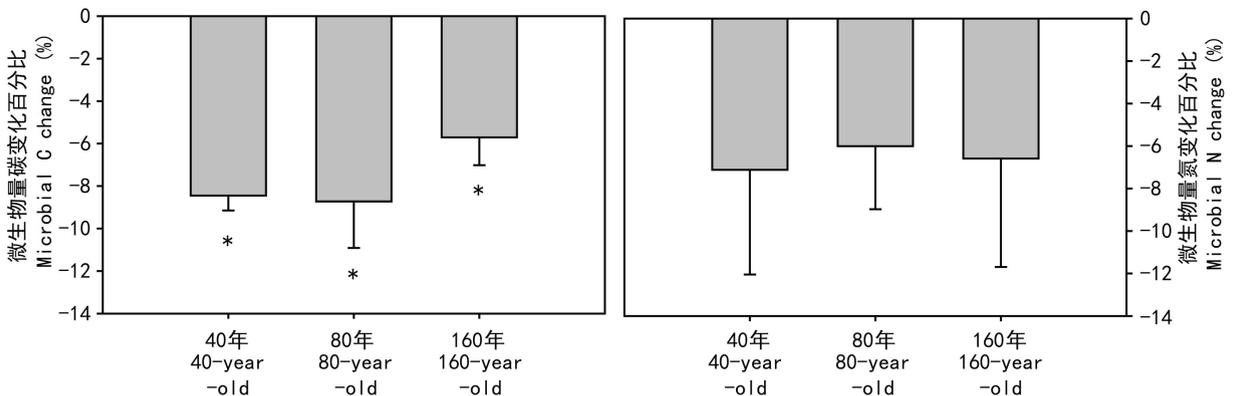


图 3 处理样方微生物量碳和氮的平均差 以对照样方的土壤微生物量碳和氮作为参照点,用“0”表示。

Fig. 3 Effects of root trench(NR) on percentage changed in microbial biomass C and N of 40, 80 and 160-year-old stands Error bars indicate  $\pm$  SE,  $n=3$ . \*  $P<0.05$ , using paired Student's  $t$  tests for differences from zero.

殖所必需的活性碳源,使壕沟或环割处理后的土壤微生物量可能出现显著减少的现象(Subke et al, 2004)。在本研究的整个观测期间,壕沟处理样

方的土壤微生物量碳在40、80和160年的锐齿栎林中均显著减少,表明了植物地下根系碳输入可能是该区域森林生态系统土壤微生物生长和繁殖的最主

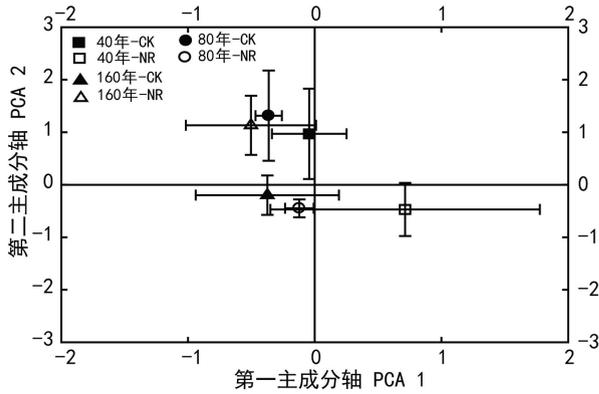


图4 对照和处理样方的表层土壤(0~5 cm)微生物群落结构的主成分分析 误差线为标准误,  $n=3$ 。2012年8月。

Fig. 4 Principal Component Analysis (PCA) of soil microbial community at 0-5 cm soil depth of 40, 80 and 160-year-old stands between control and root trench plots Error bars indicate  $\pm$  SE,  $n=3$ . August 2012.

要碳源;微生物生物量氮也有较大幅度的减少,但减少程度在不同年龄的锐齿栎林中均没有达到显著性水平。这与一些研究的结果不一致,他们的研究发现去除根系后土壤微生物生物量碳和氮均没有发生明显的变化,这可能与其试验处理的时间较短有关(Frey et al, 2006),本研究的结果和一些长期试验的结果相似(Tóth et al, 2007)。此外,本研究发现壕沟断根处理2个月或4个月后,不同年龄的锐齿栎林中处理样方的土壤微生物量碳或氮含量出现增加的现象,这可能与壕沟处理导致细根大量死亡,其分解后为土壤微生物生长和繁殖提供大量的活性碳源有关,这种现象也在一些研究中得到了验证(Chen et al, 2010)。

### 3.2 壕沟处理对土壤微生物群落结构的影响

植物根系不仅可以改变土壤碳氮的有效性或微环境来影响土壤微生物生物量,还可能通过输入碳的数量或质量的不同而改变土壤微生物群落结构(Jonasson et al, 2004; Matsushima et al, 2007)。本研究通过壕沟处理改变根系输入活性碳的数量和质量后,土壤微生物群落结构在壕沟处理14个月后,3组年龄的锐齿栎林表层土壤微生物群落均发生明显变化,这表明该区域森林生态系统的土壤微生物群落结构可能易受植物地下活性碳源的影响。该结果与Butler et al(2003)和Brant et al(2006)发现根系及其分泌物为微生物提供可靠的活性碳源,

并能影响土壤中不同类群的微生物分布一致。

本研究通过壕沟断根处理来评估植物地下碳输入对土壤微生物群落结构影响,在其影响途径中土壤中碳或氮的可利用性的改变也可能是影响土壤微生物群落结构发生变异的重要因素之一。首先,壕沟处理后,土壤中的活性碳(例如:DOC和MBC)含量降低(Zeller et al, 2008; Kaiser et al, 2010),这意味着可以供微生物利用的活性碳源减少,而直接影响利用这部分碳源的微生物数量,进而影响土壤中微生物群落的分布格局;其次,断根处理后土壤中的可利用氮含量可能增加,前期研究发现去除根系后,植物无法从土壤中摄取氮元素,导致去除根系样方的氮含量比对照组高(Dannenmann et al, 2009; Kaiser et al, 2010),而土壤中氮的可利用性也可能是引起土壤微生物群落结构发生改变的重要因素之一(Huang et al, 2014)。本研究中,虽然断根处理后土壤中细菌、放线菌和丛枝菌根真菌群落的相对百分比在不同年龄的锐齿栎林中均没发生明显变化,但腐生真菌(18:206,9c)的相对百分比却下降明显,在40年和160年的锐齿栎林中下降程度达显著水平,这可能与断根处理样方土壤中氮的可利用性增加抑制土壤中腐生真菌的生长有关(Huang et al, 2014; You et al, 2014),但还需进一步验证。

### 3.3 壕沟处理对土壤酶活性的影响

土壤胞外酶活性(Extracellular enzymes activity)在一定程度上能作为土壤微生物功能的敏感指标,在有机物分解和为微生物的新陈代谢提供物质和能量方面扮演着重要角色(Sinsabaugh et al, 2008)。土壤酶一般被归为两大类型:(1)水解酶,一般被认为是土壤微生物获取C、N和P等并为其提供初级代谢的主要驱动力;(2)氧化酶,可以降解一些质量较低、化学结构复杂的化合物(如:木质素),为微生物进行新陈代谢提供必需的能量(Cusack et al, 2011)。部分土壤酶除了由植物体代谢产生外,很大一部分均由特殊的微生物群落产生,因此其可以作为某些特定微生物活性的指示器,其大小受微生物数量的影响。同时由于不同的微生物类群产生的胞外酶种类可能存在差异,细菌通常与参与土壤有机碳转化的水解酶活性(如 $\beta$ -葡萄糖苷酶)有关,而腐生真菌却通常和参与土壤有机碳氧化的氧化酶活性(酚氧化酶和过氧化物酶)有关(You et al, 2014)。因此,土壤微生物群落的组成特征也可能是影响土壤酶活性的重要因素之一。本研究中,壕

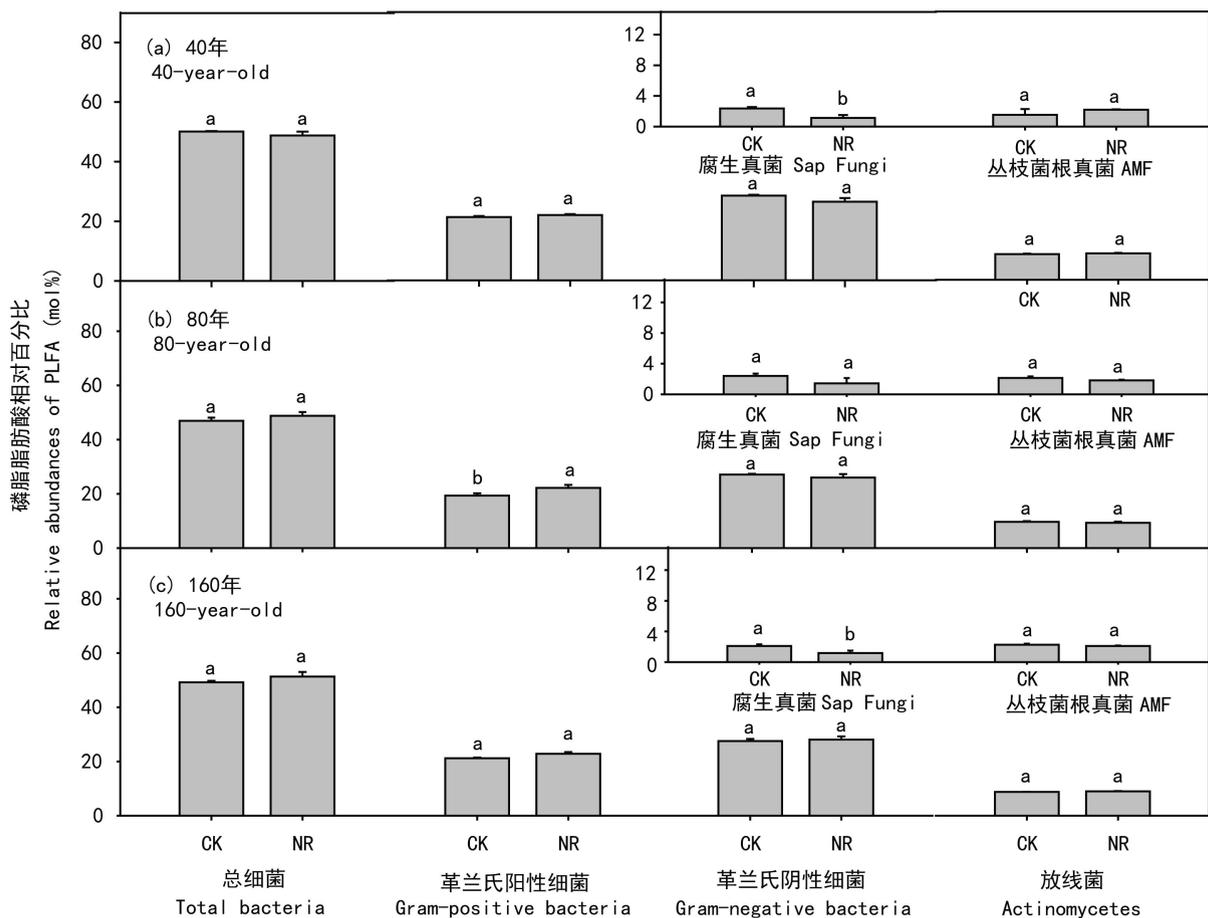


图 5 对照和处理的表层(0~5 cm)土壤微生物群落的磷脂脂肪酸相对百分含量(mol%) 误差线为标准误, $n=3$ 。

Fig. 5 Relative abundances (mol%) of the microbial community PLFA at 0-5 cm of 40, 80 and 160-year-old stands between control and root trench plots Error bars indicate  $\pm$  SE,  $n=3$ .

沟断根处理能显著降低土壤水解酶活性,这与一些前期的研究结论相似(Kaiser et al, 2010),这可能与壕沟断根后微生物生物量的减少有关。根系分泌物能够加速土壤微生物的周转,从而加速蛋白质和糖类的分解(Phillips et al, 2008),为微生物的生长和繁殖提供更多的养分,这在一定程度上说明了断根系后微生物的活性降低也可能导致土壤水解酶活性显著下降,导致本研究的土壤水解酶活性的下降程度要高于微生物生物量的变化。但在本研究的观察周期内,氧化酶活性在去除根系后有出现增高的现象,特别是过氧化物酶活性,说明土壤氧化酶活性除了受微生物数量的影响外,去除根系导致土壤微生物群落结构和土壤微环境的变化也可能是导致土壤氧化酶活性发生变化的重要因子(Bell et al, 2009)。此外,由于微生物群落组成极易受环境因素(如温度、水分和养分等)的影响,到目前为止还

没有一种土壤酶活性分析技术能完全反映土壤当时的特定环境(如含水量、渗透压、通气性、pH值等)条件下土壤酶活性状况(Toberman et al, 2008),这可能是导致本研究微生物和土壤酶活性变化程度存在差异的潜在因素之一。因此,准确评估特定的环境条件、微生物类群与土壤酶活性之间的关系还亟需开展更加长期的定点观测以及联合分子分析技术等(Andersen et al, 2010)。

### 3.4 林龄和季节变化土壤微生物性质的影响

温带森林由于其处于特殊的气候条件下,其可能易受外界环境变化的影响。由于早期人为干扰的影响而造成了该区域形成由不同林龄镶嵌组成的次生林景观格局,研究该区域不同树龄地下根系对土壤微生物生物量、结构和活性,对精确评估气候变化背景下温带森林土壤碳循环的微生物过程具有重要的作用。本研究表明,不同树龄下壕沟处理对土壤

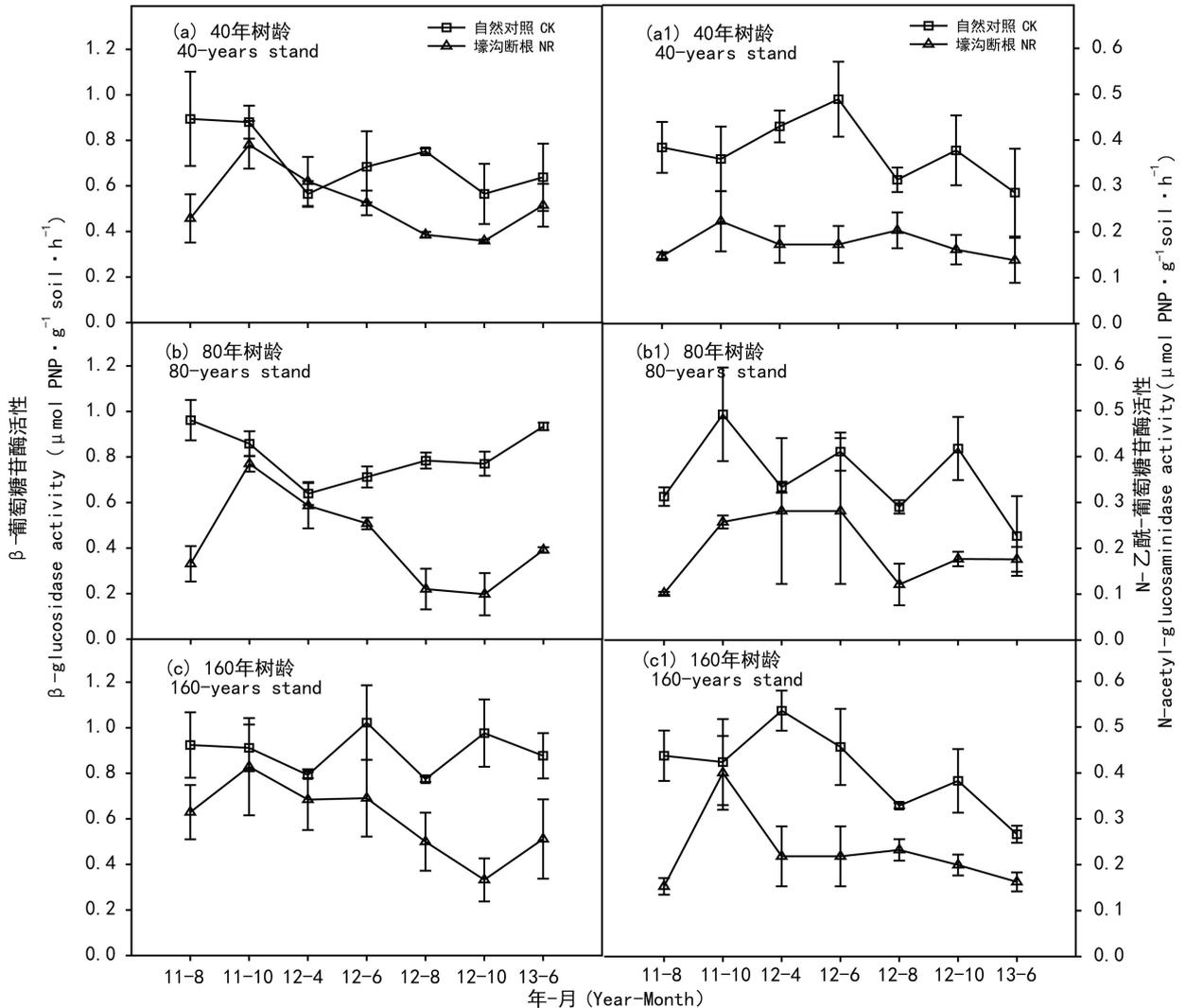


图6 对照和处理样方表层土壤(0~5 cm)的水解酶活性的变化(2011年8月至2013年6月) 下同。

Fig. 6 Soil hydrolase activity changed in 0~5 cm depth on 40, 80 and 160-year-old stands were dominated by *Quercus aliena* from August 2011 to June 2013 The same below.

微生物量、结构和活性的影响程度不同。这可能是不同树龄间根系的可用性底物供给及土壤有机碳质量的差异造成(Jin et al, 2010; Xu et al, 2014)。虽然我们的研究发现不同树龄间表层土壤的细根生物量没有显著的差异,但我们只是计算其生物量,并没有区分根系的种类,而不同物种的根系及其分泌物对土壤微生物量、结构和活性可能不同。Luan et al (2012)的研究发现不同年龄间的轻组有机碳含量有明显差异。本研究中,土壤微生物生物量和活性随季节的波动明显,这和许多研究的结果相似,微生物生物量和温度、水分之间存在显著的相关关系,微生物生物量和活性随季节间温度和水分的变化而发

生明显的变化(Yang et al, 2010; Bell et al, 2009)。You et al (2014)的研究发现该区域的土壤温度和水分是影响土壤微生物群落结构的重要因子,而微生物群落结构的变化能够驱动其功能(土壤酶活性)发生改变。此外,该区域的地面植被具有明显的季节变化特征,分为生长季和非生长季。在非生长季或生长季的早期,地表植物向地下输送的可利用性物质较少,而在生长旺季(6~8月),随着可利用性碳输入的增加导致微生物可能出现大量繁殖,这可能也是本研究土壤微生物数量在8月份达到较高水平的原因之一。而其土壤酶活性的季节波动规律与微生物数量的变化规律不一致性也进一步说明影响

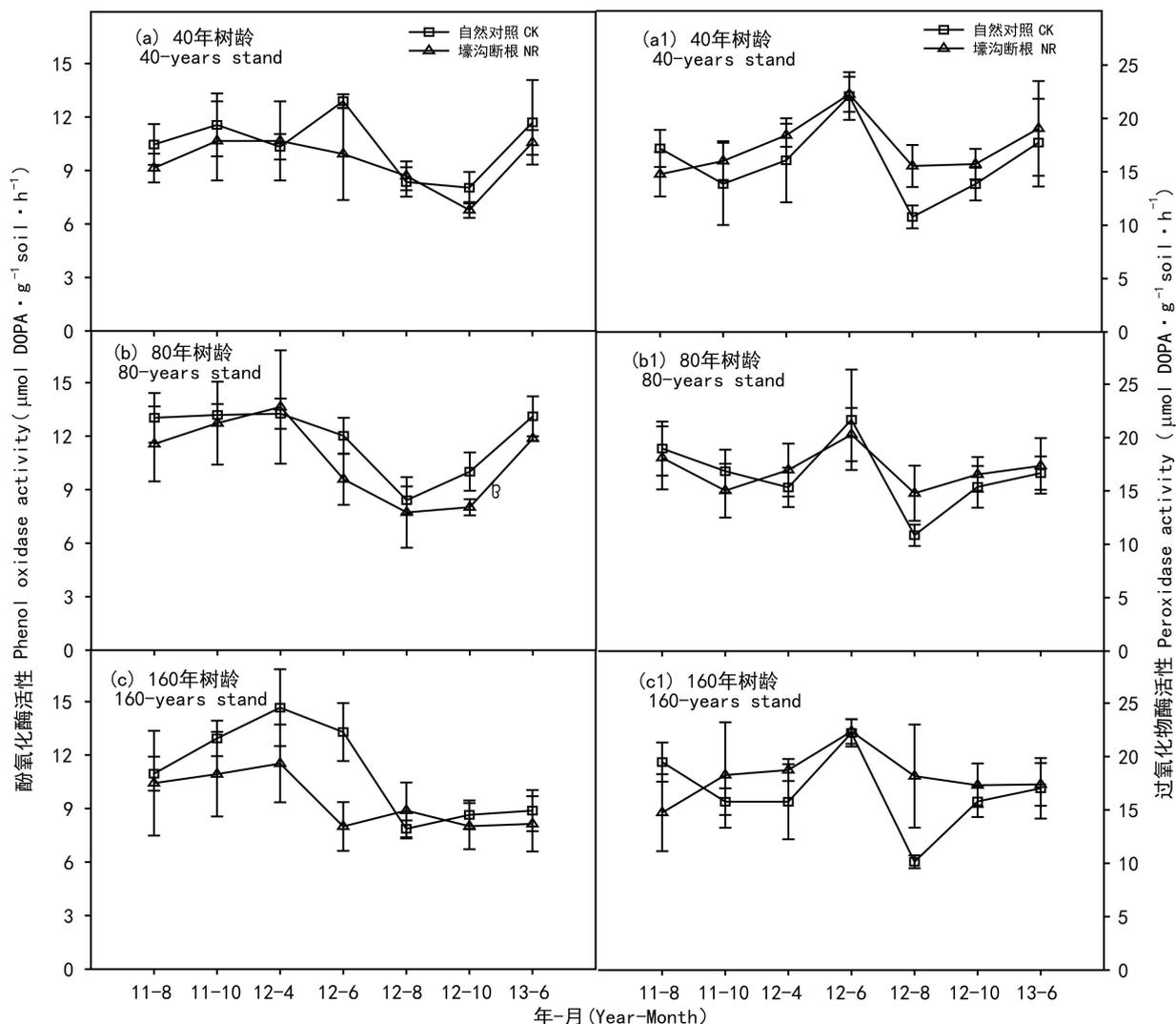


图 7 对照和处理样方表层土壤(0~5 cm)的氧化酶的变化(2011年8月至2013年6月)

Fig. 7 Soil oxidase activity changed in 0-5 cm depth on 40, 80 and 160-year-old stands were dominated by *Quercus aliena* from August 2011 to June 2013

土壤酶活性因素除微生物数量之外,植物分泌物、土壤动物和土壤微生物群落结构也可能是影响土壤酶活性的重要潜在因素。

### 3.5 壕沟处理对土壤微环境的影响

壕沟处理在一定程度上能明显改变土壤的微环境(例如土壤水分和土壤温度)(Wang et al, 2007)。但在本研究中,壕沟断根处理后表层土壤(0~5 cm)温度几乎没发生改变,这在一定程度上说明了本研究不同年龄的锐齿栎林可能具有相似的透光率和地形因子外,也可能说明壕沟处理改变的土壤理化性质和植物特征没有影响到处理样方的土壤温度,这与 Luan et al(2010)的研究结果一致。本研究中,与

对照相比,壕沟处理样方的表层土壤含水量在不同年龄的锐齿栎林中均出现增高现象,而出现这种现象的原因最可能是壕沟处理后,植物根系无法吸收处理样方内的水分而直接导致处理样方内的水分比对照组要高(Wang et al, 2007),不过这种效应均没有达到显著水平,因此也在一定程度上反映了壕沟断根引起土壤含水量升高,对土壤微生物生物量、群落结构的影响可能较小,但还需开展实验进一步验证。前期许多研究表明壕沟断根后会造植物根系在短期内快速死亡并加速根系的分解(Ngao et al, 2007),为了消除壕沟处理造成的误差,在一些研究中也采用新的处理方法,例如环割法(Kaiser et al,

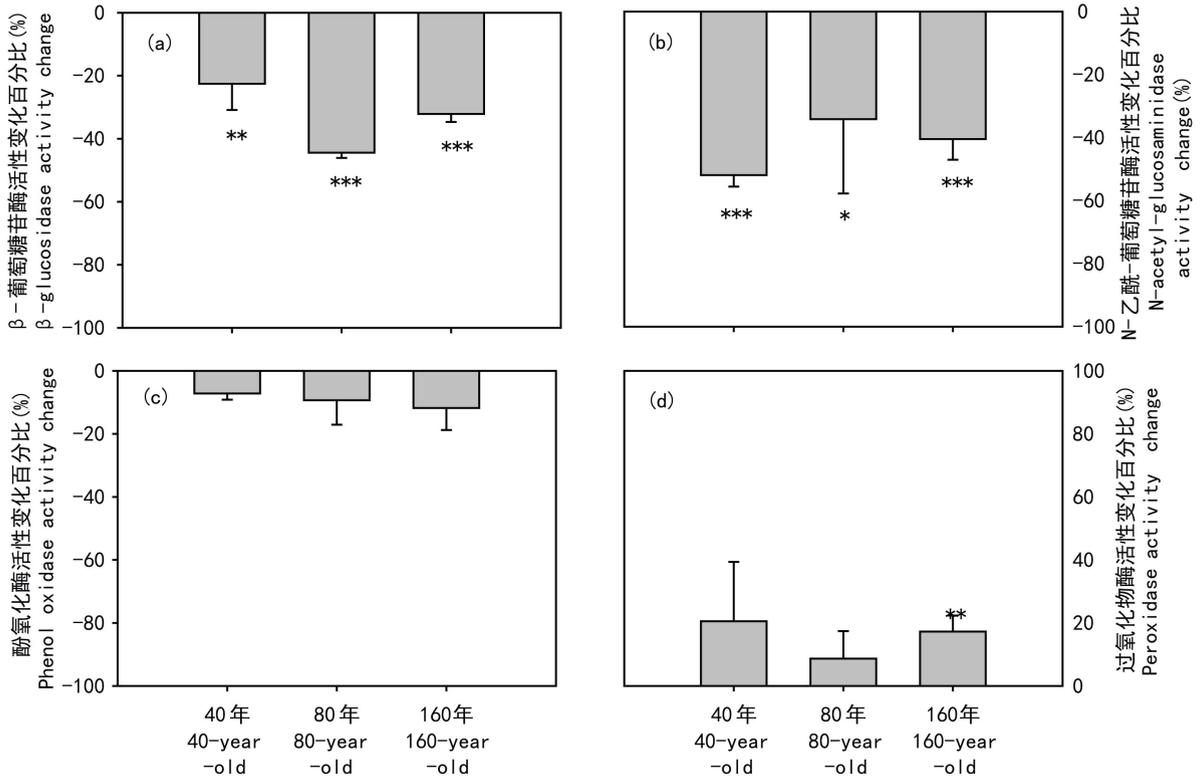


图 8 处理样方水解酶和氧化酶的平均差 以对照样方为参照点,用“0”表示。

Fig. 8 Effects of root trench (NR) on percentage changed in soil hydrolase activity and oxidase activity in 40, 80 and 160-years-old stands were dominated by *Quercus aliena* Error bars indicate  $\pm$  SE,  $n=3$ . \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , using paired Student's  $t$  tests for differences from zero.

2010),但壕沟法由于其不会造成处理样方和周边植物的大面积死亡而被许多研究广泛采用,特别适合在自然保护区的森林里开展与根系相关的试验(Luan et al, 2010)。本研究采用了在壕沟处理 60 d 后再进行土壤采样分析,这在一定程度上能削减实验处理造成的误差,而且有研究表明断根造成土壤  $\text{CO}_2$  排放量突然增加的现象一般在断根处理 40 d 后消失(Wang et al, 2007)。

综上所述,植物根系碳源是调控暖温带森林土壤微生物生物量、群落结构和活性的重要因子。土壤微生物生物量和群落结构均易受植物地下根系碳源的影响,但在不同年龄的锐齿栎林中土壤微生物生物量和群落结构受植物地下根系输入碳的影响程度有差异。40、80 年锐齿栎林的土壤微生物量碳对植物地下根系输入碳的响应程度大于 160 年的锐齿栎林,而 40 年锐齿栎林的土壤微生物群落结构受地下根系输入碳的影响程度大于 80、160 年的锐齿栎林。此外,本研究在观察周期内,除腐生真菌群落对

地下根系碳源的响应强烈之外,细菌、放线菌和丛枝菌根真菌均无明显变化;壕沟处理能显著降低土壤水解酶活性,但对氧化酶活性的影响相对较小;壕沟处理不能显著影响土壤含水量和温度。

## 参考文献:

- ANDERSON TH, HEINEMEYER O, WEIGEL HJ, 2011. Changes in the fungal-to-bacterial respiratory ratio and microbial biomass in agriculturally managed soils under free-air  $\text{CO}_2$  enrichment (FACE)-A six-year survey of a field study [J]. *Soil Biol Biochem*, 43(5): 895-904.
- BELL CW, ACOSTA-MARTINEZ V, MCINTYRE NE, et al, 2009. Linking microbial community structure and function to seasonal differences in soil moisture and temperature in a Chihuahuan desert grassland [J]. *Microb Ecol*, 58(4): 827-842.
- BOSSIO DA, SCOW KM, 1998. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns [J]. *Microb Ecol*, 35(3-4): 265-278.
- CHABBI A, RUMPEL C, 2009. Organic matter dynamics in agroecosystems-the knowledge gaps [J]. *Eur J Soil Sci*, 60(2): 153-157.

- CHEN D, ZHANG Y, LIN Y, et al, 2010. Changes in belowground carbon in *Acacia crassicarpa* and *Eucalyptus urophylla* plantations after tree girdling [J]. *Plant Soil*, 326(1-2): 123-135.
- CUSACK DF, SILVER WL, TORN MS, 2011. Changes in microbial community characteristics and soil organic matter with nitrogen additions in two tropical forests[J]. *Ecology*, 2011, 92(3): 621-632.
- ELGERSMA KJ, EHRENFELD JG, YU S, et al, 2011. Legacy effects overwhelm the short-term effects of exotic plant invasion and restoration on soil microbial community structure, enzyme activities, and nitrogen cycling [J]. *Oecologia*, 167(3): 733-745.
- FREY B, HAGEDORN F, GIUDICI F, 2006. Effect of girdling on soil respiration and root composition in a sweet chestnut forest [J]. *For Ecol Manag*, 225(1): 271-277.
- HÖGBERG MN, HÖGBERG P, MYROLD DD, 2007. Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees, or all three? [J]. *Oecologia*, 150(4): 590-601.
- HÖGBERG P, LÖFVENIUS MO, NORDGREN A, 2009. Partitioning of soil respiration into its autotrophic and heterotrophic components by means of tree-girdling in old boreal spruce forest [J]. *For Ecol Manag*, 257(8): 1 764-1 767.
- HUANG XM, LIU RS, WANG H, et al, 2014. Changes of soil microbial biomass carbon and community composition through mixing nitrogen-fixing species with *Eucalyptus urophylla* in subtropical China [J]. *Soil Biol Biochem*, 73: 42-48.
- JANSSENS IA, DIELEMAN W, LUYSSAERT S, et al, 2010. Reduction of forest soil respiration in response to nitrogen deposition [J]. *Nat GeoSci*, 3(5): 315-322.
- JIN H, SUN OJ, LIU J, 2010. Changes in soil microbial biomass and community structure with addition of contrasting types of plant litter in a semiarid grassland ecosystem [J]. *J Plant Ecol*, 3(3): 209-217.
- KABZEMS R, HAEUSSLER S, 2005. Soil properties, aspen, and white spruce responses 5 years after organic matter removal and compaction treatments [J]. *Can J For Res*, 35(8): 2 045-2 055.
- KAISER C, KORANDA M, KITZLER B, et al, 2010. Belowground carbon allocation by trees drives seasonal patterns of extracellular enzyme activities by altering microbial community composition in a beech forest soil [J]. *New Phytol*, 187(3): 843-858.
- KAISER C, KORANDA M, KITZLER B, 2010. Belowground carbon allocation by trees drives seasonal patterns of extracellular enzyme activities by altering microbial community composition in a beech forest soil [J]. *New Phytol*, 187(3): 843-858.
- KONG AYY, SIX J, 2010. Tracing root vs. residue carbon into soils from conventional and alternative cropping systems [J]. *Soil Sci Soc Am J*, 74(4): 1 201-1 210.
- KRAMER C, TRUMBORE S, FRÖBERG M, et al, 2010. Recent (< 4-year old) leaf litter is not a major source of microbial carbon in a temperate forest mineral soil [J]. *Soil Biol Biochem*, 42(7): 1 028-1 037.
- LI Y, XU M, SUN O J, et al, 2004. Effects of root and litter exclusion on soil CO<sub>2</sub> efflux and microbial biomass in wet tropical forests [J]. *Soil Biol Biochem*, 36(12): 2 111-2 114.
- LIU SR, JIANG YX, SHI ZM, 1998. Overview of the Baotianman nature reserve. A study on the biological diversity in warm temperate forest in China [M]. Beijing: China Science and Technology Press;45.
- LUAN J, LIU S, WANG J, et al, 2011. Rhizospheric and heterotrophic respiration of a warm-temperate oak chronosequence in China [J]. *Soil Biol Biochem*, 43(3): 503-512.
- MATSUSHIMA M, CHANG SX, 2007. Effects of understory removal, N fertilization, and litter layer removal on soil N cycling in a 13-year-old white spruce plantation infested with Canada blue-joint grass [J]. *Plant Soil*, 292(1-2): 243-258.
- NGAO J, LONGDOZ B, GRANIER A, et al, 2007. Estimation of autotrophic and heterotrophic components of soil respiration by trenching is sensitive to corrections for root decomposition and changes in soil water content [J]. *Plant Soil*, 301(1-2): 99-110.
- PHILLIPS RP, ERLITZ Y, BIER R, et al, 2008. New approach for capturing soluble root exudates in forest soils [J]. *Funct Ecol*, 22: 990-999.
- SCHAEFER DA, FENG W, ZOU X, 2009. Plant carbon inputs and environmental factors strongly affect soil respiration in a subtropical forest of southwestern China [J]. *Soil Biol Biochem*, 41(5): 1 000-1 007.
- SINSABAUGH RL, ANTIBUS RK, LINKINS AE, et al, 1993. Wood decomposition: nitrogen and phosphorus dynamics in relation to extracellular enzyme activity [J]. *Ecology*, 74:1 586-1 593.
- SINSABAUGH RL, LAUBER CL, WEINTRAUB MN, et al, 2008. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale [J]. *Ecol Lett*, 11(11): 1 252-1 264.
- SUBKE JA, HAHN V, BATTIPAGLIA G, et al, 2004. Feedback interactions between needle litter decomposition and rhizosphere activity [J]. *Oecologia*, 139(4): 551-559.
- TOBERMAN H, FREEMAN C, EVANS C, et al, 2008. Summer drought decreases soil fungal diversity and associated phenol oxidase activity in upland *Calluna heathland* soil [J]. *Fems Microbiol Ecol*, 66(2): 426-436.
- TÓTH JA, LAJTHA K, KOTROCZÓ Z, et al, 2007. The effect of climate change on soil organic matter decomposition [J]. *Acta Silv Lign Hung*, 3: 75-85.
- VANCE ED, BROOKES PC, JENKINSON DS, 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C [J]. *Soil Biol Biochem*, 19(6): 703-707.
- XU X, SCHIMEL JP, THORNTON PE, et al, 2014. Substrate and environmental controls on microbial assimilation of soil organic carbon: a framework for Earth system models [J]. *Ecol Lett*, 17(5): 547-555.
- YANG K, ZHU J, ZHANG M, et al, 2010. Soil microbial biomass carbon and nitrogen in forest ecosystems of Northeast China: a comparison between natural secondary forest and larch plantation [J]. *J Plant Ecol*, 3: 175-182.
- YOU YM, WANG J, HUANG XM, et al, 2014. Relating microbial community structure to functioning in forest soil organic carbon transformation and turnover [J]. *Ecol Evol*, 4(5): 633-647.
- ZELLER B, LIU J, BUCHMANN N, et al, 2008. Tree girdling increases soil N mineralisation in two spruce stands [J]. *Soil Biol Biochem*, 40(5): 1 155-1 166.